

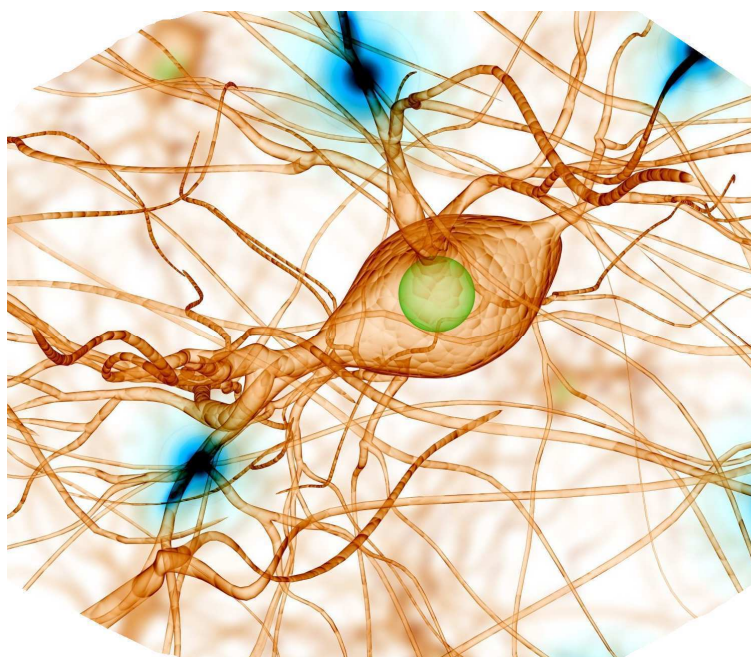


Universitat Autònoma
de Barcelona

Universitat Autònoma de Barcelona
Departament de Química, Facultat de Ciències

SÍNTESI D'UN FRAGMENT DERIVAT DEL GLUTAMAT PER A FORMAR PART D'UN INTERRUPTOR MOLECULAR

MÀSTER EN EXPERIMENTACIÓ EN QUÍMICA
Treball de recerca



Arnau Pejoan Jiménez

Directors: Dr. Félix Busqué Sánchez i Dr. Ramon Alibés Arqués

Setembre 2012

Memòria presentada per aspirar al títol de
Màster en Experimentació en Química.

Arnau Pejoan Jiménez

Vist i plau,

Dr. Félix Busqué Sánchez

Dr. Ramon Alibés Arqués

Bellaterra, 4 de Setembre de 2012

Agraïments

En primer lloc voldria agrair molt sincerament als Drs. Félix Busqué i Ramon Alibés per la confiança dipositada en mi, per la seva dedicació, bon humor i per l'ajuda que he rebut sempre que m'ha calgut. Félix, gracias por esas "mentirijillas" que contaste en algún momento y por hacer todo lo que estaba en tu mano para que mi carrera en la investigación no se parara en este MEQ. Ramon, gràcies pels consells rebuts al llarg d'aquest Màster i per donar el teu punt de vista respectant sempre el meu parer.

Voldria agrair també al Dr. Jordi Hernando per estar sempre disponible i donar un toc d'humor a tot plegat. També agrair a la Dra. Marta Figueredo i al Dr. Pau Bayón per haver fet tan acollidora la meva estada en aquest grup, així com per haver-me aconsellat i aclarit dubtes.

A tot el grup Font. Començant per les millors jefes que he pogut tenir. Marta, gràcies per haver-me deixa't fer i, alhora, haver-me estat a sobre. Sempre que he dubtat m'has resolt el dubte. Ets totalment imprescindible en aquest laboratori. Gràcies per estar atenta a tot. Sento haver-te donat molt la tabarra amb el tema de la música. Tranquil·la, la Karina no sonarà mai més al 453 (o sí...); Núria, gràcies per haver-me tractat com un més des del minut zero. Per mai no tenir un no com a resposta, perquè malgrat que a vegades les reaccions no t'anaven, encara tenies ganes d'aguantar les meves neures. Gràcies per fer més lleus les tornades amb tren (és impossible ser antisocial als ferrocarrils si vaig amb tu!); Marc, probablement si he estat aquí ha estat gràcies a tu. Gràcies per ajudar a introduir-me al grup Font. Merci perquè tu sabbies que encara que era molt tímid, en dos dies estaria sonant el Baute al lab; Bea, ha estat un plaer molt gran conèixer-te. Possiblement la persona que més m'ha costat de conèixer, però la persona que més m'ha sorprès. Gràcies per estar sempre disposada a escoltar, tot i que no valori les teves habilitats culinàries; Cris, he rigut taaaaant amb tu! Gràcies pels teus "No veas, no?", ha estat un plaer compartit tantes estones amb tu; Mireia, gràcies per donar-me suport en la introducció de la música pedorra al lab. Tu i jo sabem que hi va haver un abans i un després en la música del 453, tot i que ningú no ho reconeixerà mai; Miguel, gràcies per implicar-te en les coses que feia, el teu consell sempre ha estat útil; Xin and Yuan, thank you very much for showing me, little by little, things about Chinese culture; Adrià i Sílvia, un plaer haver discutit sobre futbol i sobre mil altres temes junts. Això sí, ara m'he quedat amb ganes d'anar a Vandellòs; Fran, gràcies per la teva sinceritat i comentar al jugada dels frikijocs varis; Laura, tot i ser Moreno, he compartit moments molt memorables amb tu. Sempre quedarà a la

meva memòria aquella xerrada al tren. Crec que aquell dia vaig créixer més que en tot un any. Gràcies.

Per últim agrair, a la Gemma, mai no vas deixar de recolzar-me; a la companyia de teatre “Amb Pinces”, heu estat la meva via d’escapament tot l’any; als meus pares, al meu germà i a la Núria, pel suport incondicional i per no deixar mai de donar l’opinió, sé que tot ho feu pel meu bé.

Als meus pares

*El secret de la meva felicitat està en no esforçar-se pel plaer, sinó en trobar
plaer en l'esforç.*

André Gide,
escriptor francès.

M'interessa el futur perquè és el lloc on passaré el que em queda de vida.

Woody Allen,
director i actor nord-americà.

ÍNDEX

Abreviatures	III
Resum	IV
1. Introducció	1
1.1. Receptors de glutamat	1
1.1.1. Receptors de glutamat ionotòpics (iGluR)	1
1.2. Interruptors moleculars.....	3
1.2.1. Interruptors moleculars per al control de l'activitat neuronal.....	5
1.3. Precedents en la síntesi de fragments de glutamat en el nostre grup.....	9
2. Objectius	11
3. Resultats i discussió	12
3.1. Obtenció de (S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di- <i>tert</i> -butil, 8	13
3.2. Obtenció de (2S,4R)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di- <i>tert</i> -butil (2S,4R)- 1	15
3.3. Obtenció de l' àcid (2R)-2-[(2S)-3- <i>tert</i> -butoxi-2-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino]-3-oxopropil]-4-pentenoic, 7	19
3.4. Obtenció de (2R,4S)-2-al·lil-4-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino]pentanodiodat de di- <i>tert</i> -butil, 2	20
3.5. Obtenció de (2S,4R)-2-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino]-4-[(E)-4-oxobut-2-en-1-il] pentanodioat de di- <i>tert</i> -butil, 6	21
3.6. Obtenció de l'àcid (2E,5R,7S)-8- <i>tert</i> -butoxi-5-(<i>tert</i> -butoxicarbonil)-7-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino]-8-oxo-2-octenoic, 5	24
3.7. Obtenció de l'àcid (5R,7S)-8-(<i>tert</i> -butoxi)-5-(<i>tert</i> -butoxicarbonil)-7-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)-8-oxooctanoic, 3	26
4. Conclusions	29
5. Part experimental	30
5.1. Materials i mètodes de caracterització estructural	30
5.2. Síntesi del fragment de glutamat.....	31
5.2.1. Síntesi de (S)-5-oxopirrolidina-2-carboxilat de <i>tert</i> -butil, 9	31
5.2.2. Síntesi de (S)-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di- <i>tert</i> -butil, 8	32
5.2.3. Síntesi de (2S,4R)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di- <i>tert</i> -butil, (2S,4R)- 1 i de (2S,4S)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di- <i>tert</i> -butil, (2S,4S)- 1	33
5.2.4. Epimerització de (2S,4S)- 4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di- <i>tert</i> -butil, (2S,4S)- 1	34

5.2.5. Síntesi l'àcid (2 <i>R</i>)-2-[(2 <i>S</i>)-3- <i>tert</i> -butoxicarbonil-2-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino]-3-oxopropil]-4-pentinoic, 7	35
5.2.6. Síntesi de (2 <i>R</i> ,4 <i>S</i>)-2-al·lil-4-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino] pentanodiodat de di- <i>tert</i> -butil, 2	37
5.2.7. Síntesi de (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-2-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino]-4-((<i>E</i>)-4-oxobut-2-en-1-il)pentanodioat de di- <i>tert</i> -butil, 6	38
5.2.8. Síntesi de l' àcid (2 <i>E</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-8- <i>tert</i> -butoxi-5-(<i>tert</i> -butoxicarbonil)-7-[(<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino-8-oxo-2-octenoic, 5	39
5.2.9. Síntesi de l' àcid (5 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-8-(<i>tert</i> -butoxi)-5-(<i>tert</i> -butoxicarbonil)-7-((<i>tert</i> -butoxicarbonil)amino)-8-oxooctanoic, 3	40

Annex

Índex de referències	i
Índex d'espectres.....	iv

ABREVIATURES

AcOEt	Acetat d'etil
Boc ₂ O	Anhídrid de l'àcid 2,2-dimetilpropanoic
c	Concentració
COSY	Correlation spectroscopy
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DMAP	Dimetilaminopiridina
DTE	Ditieniletilè
ESI	Electrospray Ionization
HMRS	High Resolution Mass Spectrometry
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Coherence
iGluR	Receptor de glutamat ionotròpic
¹ H RMN	Ressonància Magnètica Nuclear de protó
¹³ C RMN	Ressonància Magnètica Nuclear de carboni
δ	Desplaçament químic
IR (ATR)	Infrared Spectroscopy in Attenuated Total Reflection
MAG	Maleïmida-azobenzè-glutamat
NOE	Nuclear Overhauser effect
P.F.	Punt de Fusió
t	Temps
TBAF	Fluorur de tetrabutylamoni.
TM	Transmembrana
t.a.	Temperatura ambient
THF	Tetrahidrofurà

RESUM

El projecte en el qual s'emmarca aquest treball de recerca es centra en el desenvolupament d'interruptors moleculars basats en el sistema MAG (Figura 1), que permeten el control del funcionament d'un canal iònic de les cèl·lules del sistema nerviós central governat pel receptor iGluR. En aquest treball de Màster en Experimentació Química, s'ha treballat, més concretament, en la síntesi del derivat del glutamat, **3**, precursor adient de la unitat de glutamat present a la molècula MAG.

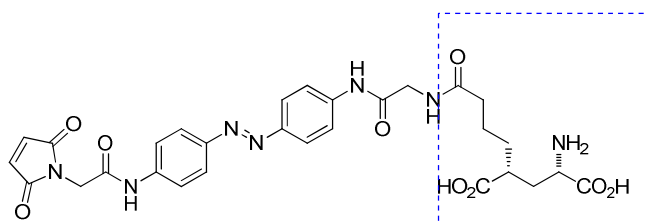
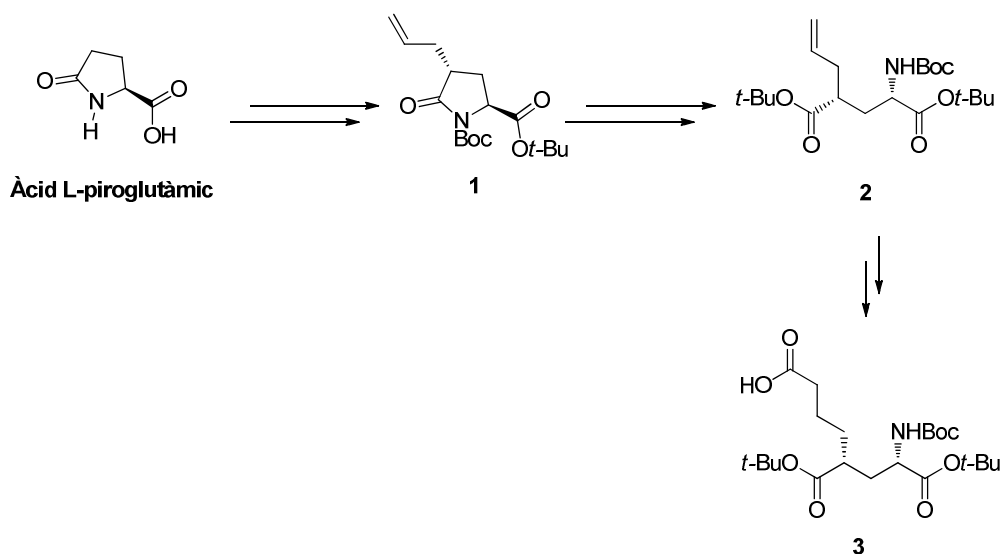


Figura 1: Estructura de l'interruptor molecular MAG.

En aquest treball de recerca s'ha dissenyat i desenvolupat una ruta sintètica del fragment de glutamat en 8 passos amb un 7% de rendiment global.



Esquema 1: Resum de la ruta sintètica realitzada en aquest treball.

La síntesi d'aquesta molècula parteix de l'àcid L-pirolglutàmic com a esquelet del fragment glutàmic, que, després de varies reaccions, condueix al compost **1**, que ha esdevingut l'intermedi clau degut a la seva dificultat per obtenir-lo. A partir de l'intermedi **1**, l'obertura de l'anell i la protecció de tots els grups funcionals, condueix al dièster **2**, que, després d'una sèrie de reaccions, ha permès obtenir el compost **3**, objectiu d'aquest treball de recerca (Esquema 1).

1. INTRODUCCIÓ

La nanociència i la nanotecnologia són disciplines que es proposen l'anàlisi i la manipulació de la matèria a escala atòmica i molecular amb l'objectiu de dissenyar i construir dispositius funcionals de mida nanomètrica.

Els interruptors moleculars constitueixen un dels casos més senzills d'aquest tipus de dispositius. Tot i així, s'hi han proposat aplicacions en camps tan diversos com la química, la ciència de materials o la biomedicina.¹ En aquest treball de Màster en Experimentació Química s'ha portat a terme la síntesi i caracterització d'una part d'un interruptor molecular tipus azobenzè que incorpora un fragment derivat del glutamat. És per aquest motiu que en la introducció d'aquesta memòria es tractarà, en primer terme, el funcionament dels receptors de glutamat i, a continuació, els interruptors moleculars plantejats i les seves aplicacions en el camp de les biociències.

1.1. Receptors de glutamat

L'-glutamat és un dels 20 aminoàcids que formen les proteïnes. A més a més, fa la funció de neurotransmissor i és majoritari en el sistema nerviós central dels vertebrats.² Forma part del 90 % de les sinapsis del cervell humà i té una influència essencial en totes les formes del comportament, incloent-hi la percepció sensorial, el control motriu i l'estat d'ànim. La seva forma d'actuar és mitjançant els receptors glutàmics, que poden ser dos tipus: (i) receptors ionotòpics (iGluR), lligats a un canal iònic; (ii) receptors metabotòpics, acoblats a les proteïnes G. El projecte que inclou aquest treball estudia interruptors moleculars que permetin controlar òpticament el receptor ionotòpic de glutamat.³

1.1.1. Receptors de glutamat ionotòpics (iGluR)

Els receptors de glutamat ionotòpics són complexos proteics formats per quatre subunitats, les quals comparteixen una estructura bàsica comuna, així com quatre regions hidrofòbiques dins la seqüència central (TMI-IV; Figura 2).

¹ Balzani, V.; Venturi, M.; Credi, A. *Molecular Devices and Machines*. VCH: Weinheim, Germany, **2003**.

² Brun, M. A.; Tan, K. T.; Griss, R.; Kielkowska, A.; Raymond, L.; Johnsson, K. *J Am Chem Soc.* **2012**, *134*, 7676-7678.

³ MRC Centre for Synaptic Plasticity [Bristol]: University of Bristol, 2002. <http://www.bristol.ac.uk/synaptic/receptors/> [consulta: maig 2012].

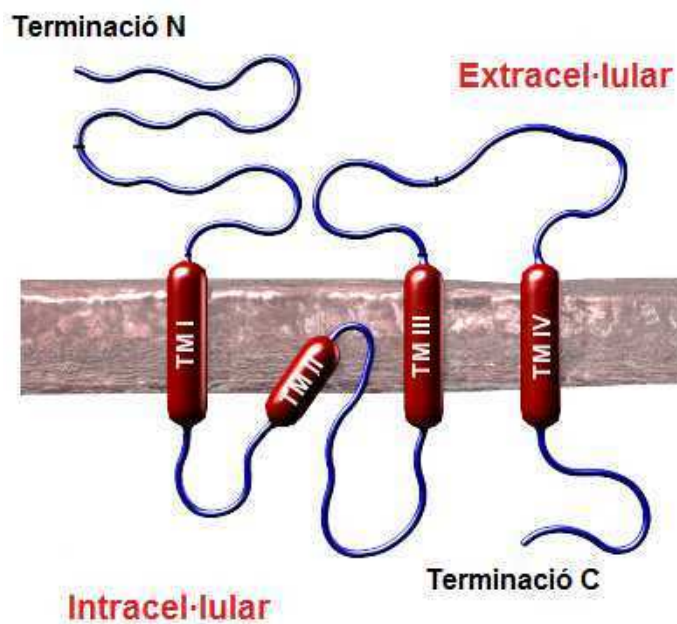


Figura 2: Estructura general d'una subunitat del receptor de glutamat ionotòpic. La llarga cadena N-terminal és extracel·lular mentre que la cadena curta C-terminal és intracel·lular.

Els receptors de glutamat juguen un paper vital en la mediació de la transmissió sinàptica excitatòria, és a dir, en la comunicació entre neurones dins del cervell. Un impuls nerviós dins d'una cèl·lula provoca l'entrada d'ions calci i, posteriorment, l'alliberament del neurotransmissor químic (en aquest cas el glutamat). El transmissor es difon a través d'un petit espai entre dues molècules, conegut com a espai sinàptic, estimulando o inhibint la següent cèl·lula de la cadena mitjançant la interacció amb les proteïnes receptores. Tot aquest procés és duu a terme en la sinapsi.

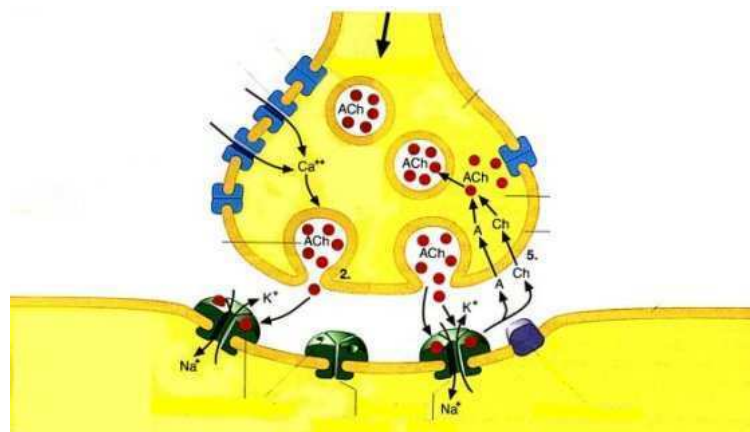


Figura 3: Dibuix esquemàtic d'una sinapsi on les neurones formen circuits dins el sistema nerviós central.

Els receptors ionotròpics en si mateixos són canals iònics tancats i només s'obren quan s'uneixen a una molècula de lligand. Un cop el lligand s'uneix al receptor, ions com K^+ o Ca^{2+} passen a través d'un canal fins al centre del complex. Aquest flux d'ions provoca la despolarització de la membrana plasmàtica i la generació de corrent elèctric que es propaga al llarg dels següents processos dins la neurona

Existeix la possibilitat que altres molècules s'uneixin a aquests receptors i que no desencadenin rutes de senyalització d'una manera eficient. Aquests compostos s'anomenen antagonistes i en molts aspectes tenen un efecte inhibidor.⁴

1.2. Interruptors moleculars

Els interruptors moleculars són compostos que es caracteritzen per tenir dos o més estats diferenciats i estables, entre els quals el sistema pot evolucionar de manera reversible. A aquests estats se'ls acostuma a anomenar “On” i “Off” i la interconversió entre ells es produeix per aplicació d'un estímul extern, tal i com es mostra en la figura 4a.

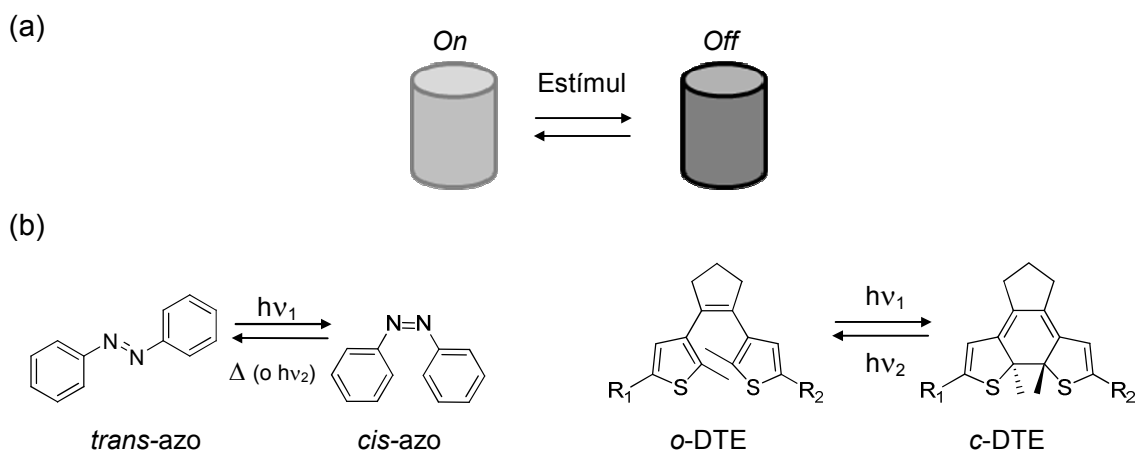


Figura 4: (a) Dibuix esquemàtic de la interconversió entre els estats “On” i “Off” d'un interruptor molecular induïda per l'aplicació d'un estímul extern. (b) Interconversió entre els estats *trans* i *cis* de l'azobenzè i els estats *obert* i *tancat* del ditieniletilè.

Normalment, els dos estats d'un interruptor molecular presenten una relació d'estereoisomeria o d'isomeria constitucional. A la Figura 4b es mostra un exemple de cadascuna d'aquestes dues situacions: (i) la interconversió entre les formes estereoisomèriques *trans* i *cis* d'interruptors moleculars de tipus azobenzènic;⁵ (ii) la

⁴ Stryer, L.; Tymoczko, J.L.; Berg, J.M. *Bioquímica*. Editorial Reverté. 2007.

⁵ Halabieh, R.; Mermut, O.; Barrett, C. *Pure Appl. Chem.* **2004**, 76, 1445-1465.

interconversió entre els isòmers constitucionals *obert* i *tancat* dels derivats de ditieniletilè.⁶ En qualsevol d'aquests dos casos, i com a resultat de les seves diferents estructures moleculars, els dos estats d'un interruptor molecular difereixen en les seves propietats físico-químiques. Aquest fet permet detectar selectivament cadascun d'aquests estats mitjançant una àmplia varietat de tècniques basades en mesures elèctriques,⁷ magnètiques⁸ o òptiques,⁹ entre d'altres.

A més a més, els interruptors moleculars també poden respondre a un gran ventall d'estímuls externs. Els estímuls utilitzats més habitualment són de tipus químic (per exemple, variació del pH¹⁰ o complexació d'ions metàl·lics¹¹), tèrmic,¹² fotoquímic¹³ i electroquímic.¹⁴ Cal destacar que, en funció de l'estímul al qual sigui sensible el sistema desenvolupat, així com de les condicions a les quals hagi de ser utilitzat, s'obtidran interruptors moleculars amb diferents aplicacions. D'especial interès és l'ús d'estímuls fotoquímics, ja que a més de no ser invasius, permeten controlar l'activitat de l'interruptor a distància. El grup de compostos més important que és capaç de respondre a aquest tipus d'estímuls són els fotocroms.

Per altra banda, el fotocromisme és defineix com una transformació reversible entre dues formes, A i B, amb diferents espectres d'absorció, induïda en una o ambdues direccions per la radiació electromagnètica, tal i com es mostra en la Figura 5. El canvi produït és típicament espectral, tot i que pot venir acompanyat de diferències en altres propietats físico-químiques.

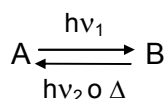


Figura 5: Esquema de la interconversió entre els dos estats d'un compost fotocròmic.

En un fotocrom, la forma termodinàmicament estable A es transforma per irradiació en la B i aquesta pot retornar a l'estat inicial o bé tèrmicament (fotocromisme de tipus T) o bé fotoquímicament (fotocromisme de tipus P). En la Figura 4b es donen dos exemples d'aquests dos tipus de fotocromisme: la isomerització *cis*→*trans* de l'azobenzè està induïda tèrmicament (tot i que també es pot produir fotoquímicament),

⁶ Naoto, T.; Hiroshi, M. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1875-1890.

⁷ Henzl, J.; Mehlhorn, M.; Gawronski, H.; Rieder, K. H.; Morgenstern, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 603-606.

⁸ Murria, M.; Teat, S. J.; Stoeckli-Evans, H.; Gudel, H. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4653-4653.

⁹ (a) Irie, M. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1683-1684. (b) de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; Gunnlaussón, T.; Huxley, A. J. M.; McCoy, C. P.; Rodemacher, J. T.; Rice, T. E. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566.

¹⁰ Callan, J. D.; de Silva, A. P.; McCleghaghan, N. D. *Chem. Commun.* **2004**, 2048-2049.

¹¹ Callan, J. F.; de Silva, A. P.; Magri, D. C. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8551-8588.

¹² Van Delden, R. A.; Hurenkamp, J. H.; Feringa, B. L. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 2845-2853.

¹³ Coulston, R. J.; Onagi, H.; Lincoln, S. F.; Easton, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14750-14751.

¹⁴ Deans, R.; Niemz, A.; Breinlinger, E. C.; Rotello, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10863-10864.

mentre que la isomerització $c \rightarrow o$ del DTE només es produeix fotoquímicament. Per tant, el tipus de fotocromisme que adopti una molècula influirà, entre d'altres coses, en les aplicacions que aquesta pugui tenir.

Els interruptors moleculars s'utilitzen en diverses àrees. Per exemple, en el camp de la ciència de materials s'han proposat per ser utilitzats com a memòries moleculars capaces d'emmagatzemar informació i com a vàlvules i màquines moleculars.¹⁵ D'altra banda, els interruptors moleculars també poden ser utilitzats com a sensors sensibles a protons,¹⁶ ions metàl·lics¹⁷ o variacions de la temperatura.¹⁸ Finalment, un dels àmbits en què els interruptors moleculars han trobat una major aplicació en els darrers anys és en el camp de les biociències. En aquesta àrea, els interruptors moleculars poden jugar un doble paper: (i) com a sensors per a monitoritzar espècies biològiques¹⁹ i, fins i tot, el desenvolupament de malalties;²⁰ (ii) com a eines per a controlar i modificar l'estructura de biomolècules^{21,22} i l'activitat cel·lular normal.^{23,24} En aquest treball de Màster en Experimentació Química s'han investigat interruptors moleculars que puguin tenir aplicació en el control de l'activitat neuronal.

1.2.1. Interruptors moleculars per al control de l'activitat neuronal

Durant les darreres dècades, el treball conjunt de bioquímics, químics i biofísics ha fet possible el somni de controlar i manipular externament l'activitat cel·lular. Tot i que la major part de la recerca en aquest camp encara està enfocada cap a l'elucidació dels processos cel·lulars, el seu objectiu final no és un altre que el

- ¹⁵ (a) Bissell, R. A.; Cordova, E.; Kaifer, A. E.; Stoddart, J. F. *Nature* **1994**, 369, 133-137. (b) Badjic, J. D.; Balzani, V.; Credi, A.; Silvi, S.; Stoddart, J. F. *Science* **2004**, 303, 1845-1849.
- ¹⁶ (a) de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; McCoy, C. P. *Chem. Commun.* **1996**, 2399-2400. (b) Cao, Y. D.; Zheng, Q. Y.; Chen, C. F.; Huang, Z. T. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 4751-4755.
- ¹⁷ (a) de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; McCoy, C. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 7891-7892. (b) de Silva, S. A.; Amorelli, B.; Isidor, D. C.; Loo, K. C.; Crooker, K. E.; Pena, Y. E. *Chem. Commun.* **2002**, 1360-1361.
- ¹⁸ Uchiyama, S.; Kawai, N.; de Silva, A. P.; Iwai, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 3032-3033.
- ¹⁹ Folling, J.; Betov, V.; Kunetsky, R.; Medda, R.; Schonle, A.; Eggeling, C.; Bossi, M.; Hell, S. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 6266-6270.
- ²⁰ Waldmann, H.; Wittinghofer, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 4192-4214.
- ²¹ (a) Pieroni, O.; Fissi, A.; Angelini, N.; Lenci, F. *Acc. Chem. Res.* **2001**, 34, 9-17. (b) Renner, C.; Kusebauch, U.; Lowenack, M.; Milbradt, A.G.; Moroder, L. *J. Peptide Res.* **2005**, 65, 4-14. (c) Jurt, S.; Aemissegger, A.; Guntert, P.; Zerbe, O.; Hilvert, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 6297-6300. (d) Moroder, L.; Renner, C. *Chem. Bio. Chem.* **2006**, 7, 868-878.
- ²² (a) Iftime, G.; Labarthe, F. L.; Natansohn, A.; Rochon, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 12646-12650. (b) Natansohn, A.; Rochon, P. *Chem. Rev.* **2002**, 102, 4139-4176.
- ²³ Blaustein R. O.; Cole P. A.; Williams C.; Miller C. *Nat. Struct. Biol.* **2000**, 7, 309-311.
- ²⁴ Bortolus P.; Monti S. *J. Phys. Chem.* **1979**, 83, 648-652.

d'incorporar sistemes moleculars artificials dins dels teixits biològics per tal de regular la seva activitat mitjançant l'aplicació d'estímuls externs.²⁵

Una de les estratègies més simples per assolir aquest objectiu consisteix en modificar el material biològic (per exemple, una proteïna) de tal manera que sigui sensible a la llum.²⁶ Aquesta modificació es podria aconseguir afegint-hi un compost fotocròmic sintètic que pogués activar ("On") o desactivar ("Off") el sistema biològic en aplicar un estímul lumínic.

Els avantatges de la manipulació òptica de l'activitat biològica són molt diversos. Per una banda, es tracta d'una tècnica no invasiva i selectiva que es pot activar a distància. A més a més, l'elevada resolució amb què la llum pot ser manipulada tant temporalment com espacialment fa possible investigar processos biològics ràpids que estiguin confinats en zones de mida sub-micromètrica d'un teixit.

Una de les aplicacions més rellevants del control òptic de l'activitat cel·lular es produeix en el camp de la neurotransmissió i del control de l'activitat neuronal. Els neurotransmissors són molècules que utilitzen els sistemes biològics per transmetre, amplificar i modular senyals entre una neurona i una altra cèl·lula. Per tant, assolir el control de la seva activitat mitjançant l'aplicació d'estímuls externs lumínics no només permetria l'estimulació neuronal a voluntat, sinó també l'estudi del paper que juguen les diferents cèl·lules que constitueixen el sistema nerviós.

Un primer exemple de control òptic de l'activitat neuronal es va descriure l'any 1980. Aquest exemple va consistir en la modificació del receptor d'acetilcolina nicotínic de cèl·lules del sistema nerviós central de tal forma que pogués ser fotoactivat al ser irradiat amb llum de diferents longituds d'ona.²⁷

A l'hora de dur a terme el control òptic de l'activitat neuronal s'acostumen a seguir dos tipus d'estratègies diferents: (i) modificar químicament els compostos que actuen com a neurotransmissors, de manera que es pugui activar o desactivar la seva capacitat per a interaccionar amb els llocs d'unió neuronal sota irradiació,²⁸ (ii) modificar químicament els receptors neuronals, de forma que es permeti o s'inhabiliti la seva interacció amb els neurotransmissors en aplicar un estímul lumínic.²⁹ En concret, el nostre interès s'ha centrat en interruptors moleculars que permetin controlar òpticament el receptor ionotrópic de glutamat (iGluR), seguint la primera estratègia anteriorment esmentada.

²⁵ Gorostiza, P.; Isacoff, E. Y. *Science* **2008**, 322, 395-399.

²⁶ Gorostiza, P.; Isacoff, E. Y. *Mol. Biosyst.* **2007**, 3, 686-704.

²⁷ Lester, H. A.; Krouse, M. E.; Nass, M. M.; Wasseemann, N.H.; Erlanger, B. F. *J. Gen. Physiol.* **1980**, 75, 207-232.

²⁸ Szobota, S.; Gorostiza, P.; Del Bene, F.; Wyart, C.; Fortin, D. L.; Kolstad, K. D.; Tulyathan, O.; Volgraf, M.; Numano, R.; Aaron, H.L.; Scott, E. K.; Trauner, D.; Isacoff, E. Y. *Neuron* **2007**, 54, 535-545.

²⁹ Harada, T.; Harada, C.; Nakayama, N.; Okuyama, S.; Yoshida, K.; Kohsaka, S.; Matsuda, H.; Wada, K. *Neuron* **2000**, 2, 285-286

Els grups dels Profs. Pau Gorostiza (Institut de Bioenginyeria de Catalunya, Barcelona), Dirk Trauner (Universitat de Munich, Alemanya) i Ehud Y. Isacoff (Universitat de Califòrnia, Estats Units) han desenvolupat una família d'interruptors moleculars que controlen el funcionament del receptor iGluR.³⁰ La molècula MAG (maleïmida-azobenzè-glutamat) és el cas més paradigmàtic d'aquesta família d'interruptors.³¹ Aquest compost conté tres unitats bàsiques tal i com es mostra a la Figura 6: (i) un grup maleïmida que permet ancorar l'interruptor MAG a una unitat de cisteïna en l'exterior del domini de la unió del lligand; (ii) un grup azobenzè fotoisomeritzable; i (iii) una unitat de glutamat que controla l'obertura i el tancament del canal iònic en unir-se al receptor iGluR. La síntesi d'un precursor adient d'aquesta unitat de glutamat serà l'objectiu principal d'aquest treball de recerca.

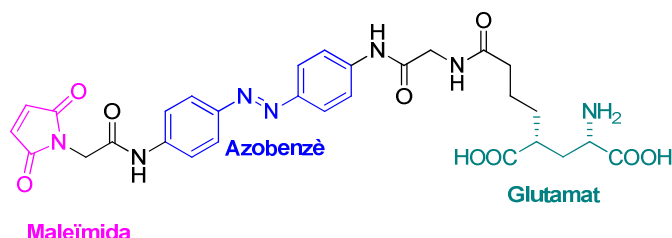


Figura 6: Estructura de l'interruptor molecular MAG.³²

A la Figura 7 es mostra una representació esquemàtica de com es desenvolupa el control de l'activitat del canal iònic de potassi governat pel receptor iGluR mitjançant l'interruptor molecular tipus MAG.

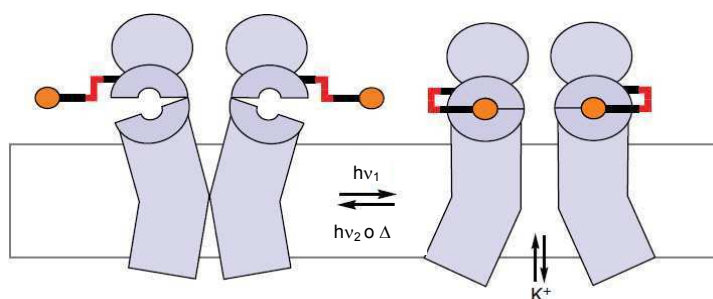


Figura 7: Mecanisme d'obertura i tancament del canal iònic controlat pel receptor iGluR mitjançant la interconversió fotoquímica entre els dos estats de l'interruptor molecular MAG.³³

³⁰ Volgraf, M.; Gorostiza, P.; Numano, R.; Kramer, R. H.; Isacoff, E. Y.; Trauner, D. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, 2, 47-52.

³¹ Gorostiza, P.; Isacoff, E. Y. *Physiology* **2008**, 23, 238-247.

³² Gorostiza, P.; Volgraf, M.; Numano, R.; Szobota, S.; Trauner, D.; Isacoff, E. Y. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 10865-10870.

³³ Numano, R.; Szobota, S.; Lau, A. Y.; Gorostiza, P.; Volgraf, M.; Roux, B.; Trauner, D.; Isacoff, E. Y. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2009**, 106, 6814-6819.

En primer terme, aquest compost ha de ser unit covalentment a una regió de l'espai propera al centre actiu del receptor mitjançant l'acoblament entre el seu grup maleïmida i el grup tiol d'un residu de cisteïna del sistema iGluR. Un cop unit al receptor, i en absència d'irradiació, l'interruptor MAG es troba en la seva forma estesa *trans* afavorida termodinàmicament. Tal i com s'indica a la Figura 7, en aquesta configuració, el grup terminal glutamat de MAG es troba allunyat del lloc d'unió del receptor, per la qual cosa no hi interacciona i el canal iònic es manté tancat. Ara bé, en irradiar amb llum de freqüència adient ($\nu_1 \sim 360$ nm), la unitat central azobenzènica de MAG s'interconverteix a la seva forma isomèrica plegada *cis*. Això permet l'apropament entre la seva unitat de glutamat i el lloc d'unió del receptor, la qual cosa facilita la interacció entre tots dos i condueix finalment a l'obertura del canal iònic. Finalment, aquest procés es pot revertir o bé de forma espontània un cop la forma *cis* de MAG es relaxi tèrmicament al seu estat *trans*, o bé per irradiació amb llum de freqüència adient ($\nu_2 \sim 450$ nm) per a fotoinduir la transformació *cis*→*trans*. La capacitat per a controlar el procés d'obertura-tancament del canal iònic governat pel receptor iGluR mitjançant l'estimulació òptica de l'interruptor molecular MAG, així com la reversibilitat i reproduïbilitat d'aquest funcionament ha estat demostrada mitjançant mesures electroquímiques.³⁴

L'activitat òptica dels interruptors moleculars pot ser estudiada mitjançant les propietats intrínseques de les unitats fotoactives. Aquestes propietats més rellevants són: (i) l'espectre d'acció de fotoisomerització, que indica el rendiment de la reacció en funció de la longitud d'ona; (ii) l'eficiència de la fotoisomerització, que és, fonamentalment, el que governa la velocitat de la reacció; (iii) el temps de relaxació, és a dir, la cinètica del procés reversible de isomerització per recuperar el seu estat *trans*.

La caracterització de totes aquestes propietats és crucial alhora d'optimitzar les condicions d'irradiació en la nostra molècula. Aquests paràmetres poden variar substancialment per estructures fotocromiques estructuralment semblants, ja que són molt sensibles a les modificacions químiques dels seus substituents.^{35, 36}

L'optimització de les propietats fotoactives dels interruptors moleculars esdevé molt important en tot aquest procés. Particularment, es centrarà l'atenció en les següents propietats:

(i) Temps de relaxació: Disminuir l'estabilitat tèrmica de l'estat *cis* de l'interruptor, de tal manera que el tancament del canal es produeixi de manera immediata i espontània un cop s'aturi la irradiació que fotoindueix la transició *trans*→*cis*. D'aquesta

³⁴ Volgraf, M.; Gorostiza, P.; Szobota, S.; Helix, M. R.; Isacoff, E. Y.; Trauner, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 260-261.

³⁵ Zollinger, H. *Colour Chemistry. Synthesis, Properties, and Applications of Organic Dyes*; VCH, **1987**, Weinheim.

³⁶ Kwole, S.; Morgan, P.; Schaefer, J. *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*; New York, **1989**.

1. Introducció

vàlida en casos on, per tal d'obtenir els derivats desitjats tipus MAG, la introducció de l'anell de maleïmida s'havia d'efectuar prèviament a la hidròlisi de l'anell de lactam, ja que l'esmentada maleïmida és inestable en les condicions bàsiques necessàries per la hidròlisi.

Per aquest motiu, es feia necessari desenvolupar i utilitzar un altre fragment precursor de la unitat glutamat que es pogués donar en condicions àcides, sota les quals la unitat maleïmida sí que resulta estable.

2. OBJECTIUS

Com s'ha discutit al llarg de la introducció, pel correcte desenvolupament de la nostra línia d'investigació sobre fotointerruptors moleculars azobenzènics, es feia necessari obtenir un nou precursor de la unitat glutamat que pogués generar aquest mitjançant un tractament àcid, condicions en les que la funcionalitat maleïmida resta estable.

El fragment escollit va ser el compost **3** (Figura 8), amb la funcionalitat amina protegida en forma de carbamat de *tert*-butil i dos dels tres àcids carboxílics derivatitzats com a èsters *tert*-butílics. En medi àcid aquest precursor hauria d'alliberar sense problemes l'amina i els àcids carboxílics característics de la unitat glutamat.

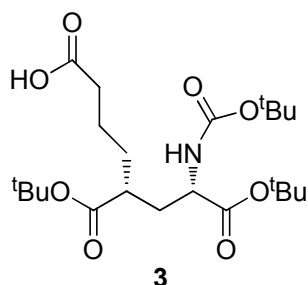
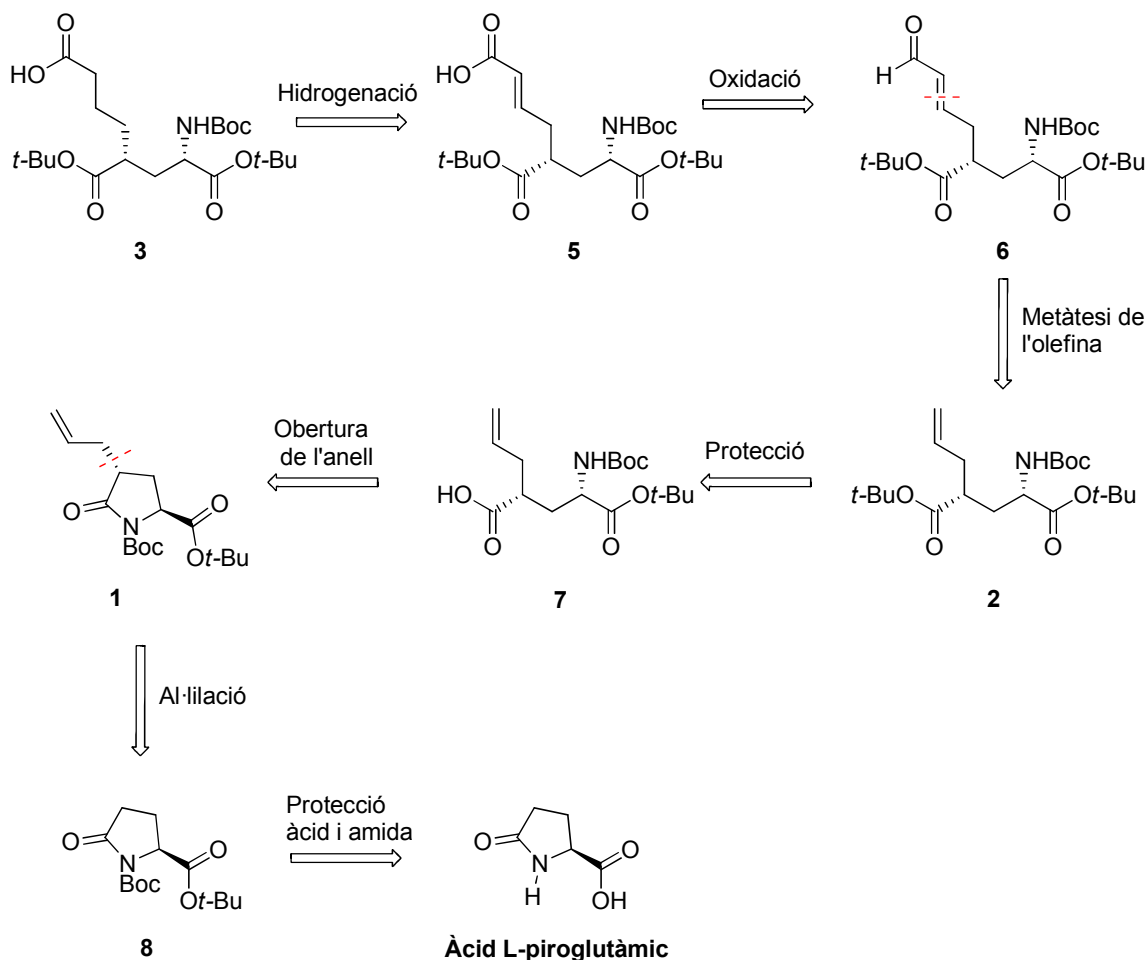


Figura 8: Unitat glutamat objectiu d'aquest treball.

3. RESULTATS I DISCUSSIÓ

En l'Esquema 3 es recull l'anàlisi retrosintètica plantejada per obtenir el fragment precursor del tipus glutamat **3**.



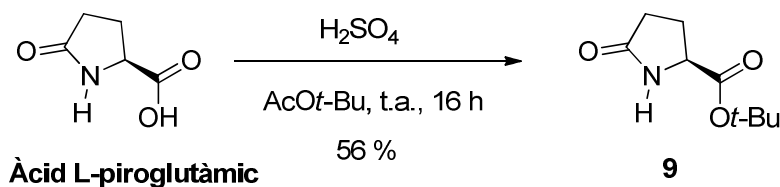
Esquema 3: Anàlisi retrosintètica per la preparació del fragment precursor del glutamat **3**.

La molècula objectiu **3** provindria de la hidrogenació de la olefina de l'àcid carboxílic **5**, el qual es podria obtenir per oxidació de l'aldehid **6**. La desconnexió de la molècula **6** a través d'una reacció de metàtesi d'olefines ens portaria a la molècula intermedi **2**, que alhora provindria de l'esterificació de l'àcid carboxílic **7** en forma d'ester *tert*-butílic, que s'obtindria mitjançant una hidròlisi bàsica del lactam **1**. L'intermedi clau d'aquesta síntesi és l'**1**, que provindria de l'al·lilació de la posició α de l'amida protegida **8**. Per últim, l'intermedi **8** s'obtindria a partir de les proteccions dels grups funcionals de l'àcid L-pirolglutàmic, que és un producte comercial.

3.1. Obtenció d'(*S*)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, 8.

La síntesi comença a partir de l'àcid L-pirolglutàmic amb les derivatitzacions de l'àcid carboxílic i del nitrogen de l'amida, en forma de d'èster *tert*-butílic i de carbamat de *tert*-butil, respectivament.

El primer pas d'esterificació es va dur a terme basant-nos en el procés descrit per Gross *et al.*,³⁷ que treballava exactament amb aquesta mateixa molècula però amb la particularitat que en el nostre cas s'ha emprat H₂SO₄ enlloc de HClO₄, obtenint-se un rendiment similar. Per tal de garantir un millor rendiment, la quantitat d'equivalents d' H₂SO₄ utilitzats és més gran així com el temps de reacció, que és de 16 h, el doble del descrit, tal i com es mostra en l'Esquema 4.



Esquema 4: Reacció d'esterificació de l'àcid carboxílic en forma de *tert*-butil 9.

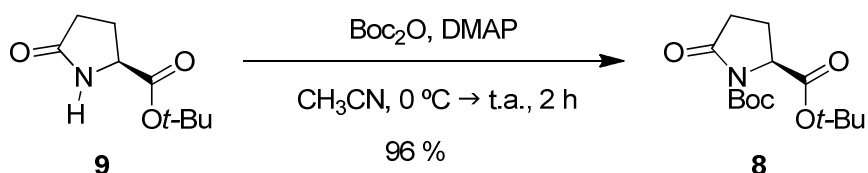
Tot i que la reacció s'ha seguit mitjançant cromatografia de capa prima, mai s'ha observat que el substrat de partida s'acabi. Un canvi necessari respecte la metodologia descrita és la utilització d'un dissolvent diferent per fer les extraccions. Així doncs, esdevé important extreure el producte amb AcOEt enlloc d'èter dietílic, arribant a obtenir l'intermedi 9 amb un rendiment del 56 % sense poder-ne recuperar el reactiu de partida. El mateix cru de reacció es pot utilitzar per al següent pas sense necessitat de purificació.

L'espectre de ressonància magnètica nuclear de protó del producte obtingut presenta un senyal a δ 1.45 en forma de singlet i que integra 9 protons, confirmant així que ha tingut lloc la formació de l'èster *tert*-butílic desitjat.

El següent pas en la síntesi correspon a la protecció del nitrogen del lactam en forma de carbamat de *tert*-butil, seguint la metodologia descrita per Gross *et al.*³⁷ per aquesta mateixa molècula, tal com s'indica en l'Esquema 5.

³⁷ Gross, U.; Nieger, M.; Bräse, S. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4740-4742.

3. Resultats i discussió



Esquema 5: Protecció del nitrogen del lactam en forma de carbamat de *tert*-butil.

La reacció s'ha seguit mitjançant cromatografia de capa prima fins a observar la desaparició del substrat de partida. La posterior purificació del cru de reacció obtingut mitjançant cromatografia de gel de sílice, va permetre aïllar el compost **8** amb un 96% de rendiment.

L'espectre de ressonància magnètica nuclear de protó del producte sintetitzat mostra un nou singlet al voltant de δ 1.45 que també integra 9 protons, confirmant la formació del carbamat de *tert*-butil. A més a més, el senyal del protó α -carboxílic a δ 4.47 que abans era un multiplet, passa ara a ser un doblet de doblets. Això és degut a que ara aquest protó només s'acobla amb els protons H-3, tal com es pot observar en la Figura 9.

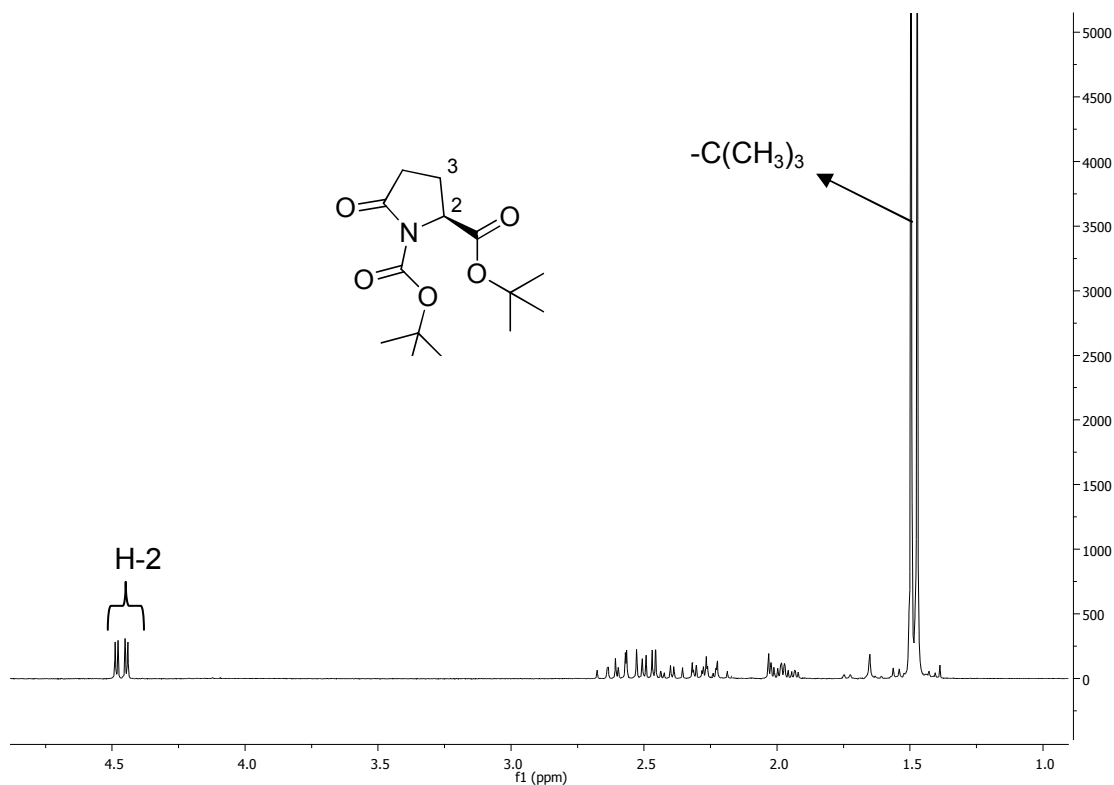
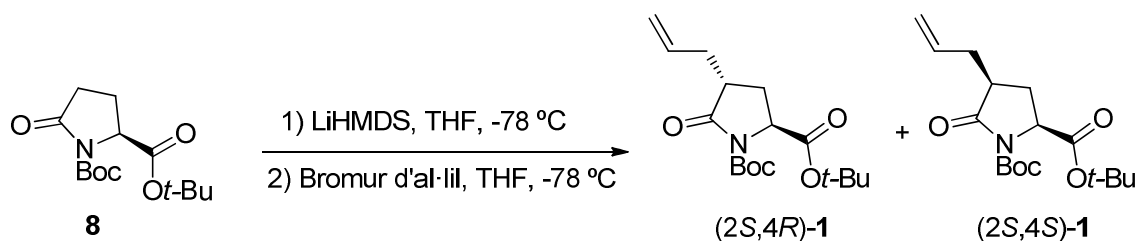


Figura 9: Espectre de ^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) de **8**.

3.2. Obtenció de (2S,4R)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil (2S,4R)-1.

El següent pas d'aquesta ruta sintètica d'obtenció de la molècula objectiu **3** planteja la introducció del grup al·lil en la posició α respecte el lactam **8**. L'obtenció d'aquest intermedi s'ha convertit en l'etapa clau d'aquesta síntesi, degut als baixos rendiments obtinguts, tot i ser un compost descrit a la bibliografia.^{38,39,40}

Com es pot veure en l'Esquema 6, la metodologia descrita per obtenir el compost **1** es basa en generar l'enolat lactàmic de **8** utilitzant LiHMDS com a base per després fer-lo reaccionar amb una molècula electròfila com és el bromur d'al·lil. El resultat és l'obtenció dels dos diastereoisòmers (2S,4R)-**1** i (2S,4S)-**1**. A més, a més, depenent de les condicions utilitzades s'ha observat el producte dial·lilat com a subproducte de la reacció.



Esquema 6: Reacció d'al·lilació de **8**.

Així doncs, les primeres condicions provades van ser les descrites per Pedregal *et al.*³⁸, on s'utilitzaven 1.2 equivalents de LiHMDS i 4 equivalents de bromur d'al·lil. El procés es va dur a terme addicionant l'enolat sobre l'electròfil. Finalment, després de purificar el cru de reacció per cromatografia en columna de sílice, es van obtenir (2S,4R)-**1** i (2S,4S)-**1** amb un rendiment global del 38 % i amb una proporció de 2.7:1 respecte (Entrada 1, Taula 1).

Posteriorment, es van provar unes noves condicions descrites per Ezquerra *et al.*³⁹ i per Steger *et al.*⁴⁰, les quals consistien en utilitzar 1.1 equivalents de LiHMDS i 1.5 equivalents de bromur d'al·lil. A més a més, en aquest cas es va canviar l'ordre d'addició, afegint l'electròfil sobre l'enolat. Tot i així, després de purificar el cru de reacció mitjançant cromatogràfica en columna de gel de sílice, els resultats no van ser millors, obtenint-se un 21 % de rendiment global i una proporció de 1.3:1 del diastereoisòmer (2S,4R)-**1** respecte el (2S,4S)-**1**. (Entrada 2, Taula 1).

³⁸ Pedregal, C.; Collado, I.; Escribano, A.; Ezquerra, J.; Domínguez, C.; Mateo, A.I.; Rubio, A.; Baker, S.R.; Goldsworthy, J.; Kamboj, R.K.; Ballyk, B.A.; Hoo, K.; Bleakman, D. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 1958-1968.

³⁹ Ezquerra, J.; Pedregal, C.; Rubio, A.; Yrretagoyena, B.; Escribano, A.; Sanchez-Ferrando, F. *Tetrahedron* **1993**, 49, 8665-8678.

⁴⁰ Steger M.; Young, D.W.; *Tetrahedron* **1999**, 55, 7935-7956.

3. Resultats i discussió

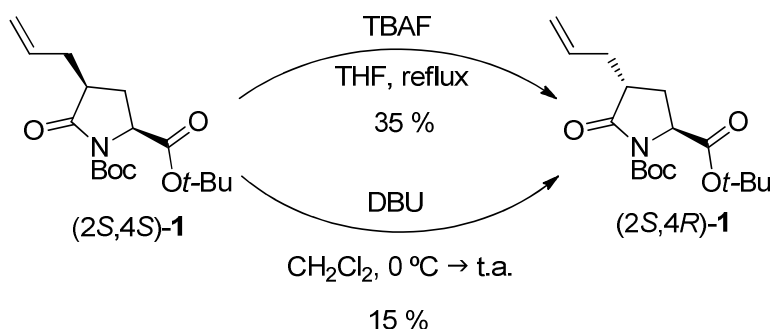
Un cop observat que la disminució d'equivalents de bromur d'al·lil no va resultar satisfactòria, es van tornar a utilitzar 4 equivalents d'aquest. Novament, es va dur a terme la mateixa metodologia en quant a l'ordre d'addició (electròfil sobre enolat) fet que va esdevenir clau, ja que, després de purificar el cru de reacció mitjançant cromatografia en columna de sílice, es va obtenir un rendiment global d'un 48 % i una proporció de 3.3:1, els millors resultats obtinguts fins ara (Entrada 3, Taula 1). Finalment, doncs, el diastereoisòmer (2*S*,4*R*)-**1** es va aconseguir amb un rendiment del 36%.

Entrada	Eq. LiHMDS	Eq. Bromur d'al·lil	Rendiment global (%)	Rendiment (2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)- 1 (%)	Ràtio (4 <i>R</i> :4 <i>S</i>)
1 ^a	1.2	4	38	21	2.7:1
2 ^b	1.1	1.5	21	11	1.3:1
3 ^b	1.1	4	48	36	3.3:1

Taula 1: Condicions provades per a la reacció d'al·lilació de **8**. ^a Addició de l' enolat sobre electròfil.

^b Addició de l' electròfil sobre enolat.

D'altra banda, es va provar l'obtenció del compost (2*S*,4*R*)-**1** i a partir de l'epimerització del seu diastereoisòmer.^{41,42} Les reaccions assajades, utilitzant una base com a catalitzador (TBAF i DBU) per tal d'establir un equilibri entre ambdós isòmers, no van donar els resultats desitjats, obtenint-se amb uns rendiments del 35 % i 17 %, respectivament, el diastereoisòmer (2*S*,4*R*)-**1** i sense recuperar-ne l'isòmer de partida, tal com es pot veure en l'Esquema 7. Cal destacar que l'anió fluorur és més eficaç que l'amidina del DBU.⁴³



Esquema 7: Reaccions d'epimerització de (2*S*,4*S*)-**1**.

⁴¹ Charrier, J. D.; Hadfield, D. S.; Hitchcock, P.B.; Young, D.W. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 474-482.

⁴² Tarver, J.E.; Terranova, K.M.; Joullie, M.M. *Tetrahedron* **2004**, 60, 10277-10284.

⁴³ Clark, J.H. *Chem. Rev.* **1980**, 80, 429-452.

Cal remarcar en aquest punt que no s'ha observat epimerització en el carboni C-2, degut probablement a la poca accessibilitat del seu protó. L'assignació i caracterització dels dos diastereoisòmers s'ha basat en la comparació amb les seves dades de RMN descrites a la bibliografia. Com es pot comprovar en la Figura 10, els dos isòmers es poden diferenciar per el senyal corresponent al protó H-2, al voltants de δ 4.40 ja que les seves constants d'acoblament amb els dos protons H-3 són diferents per a (2*S*,4*R*)-1 ($J_{2,3S}$ = 9.6 Hz, $J_{2,3R}$ = 1,6 Hz) i per a (2*S*,4*S*)-1 ($J_{2,3S}$ = 9.3 Hz, $J_{2,3R}$ = 5,7 Hz).

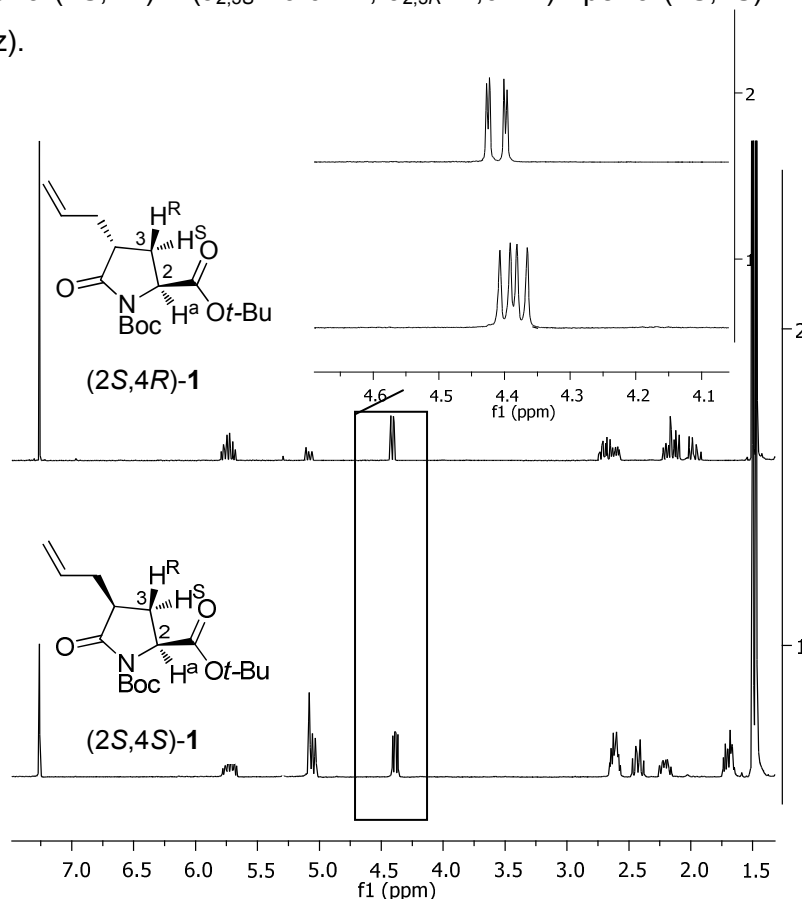


Figura 10: Comparació dels espectres d' ^1H RMN de les molècules (2*S*,4*R*)-1 i (2*S*,4*S*)-1.

A més a més, es va enregistrar un espectre nOe selectiu per cadascun dels dos compostos irradiant el senyal corresponent al protó H-2 (Figura 11).

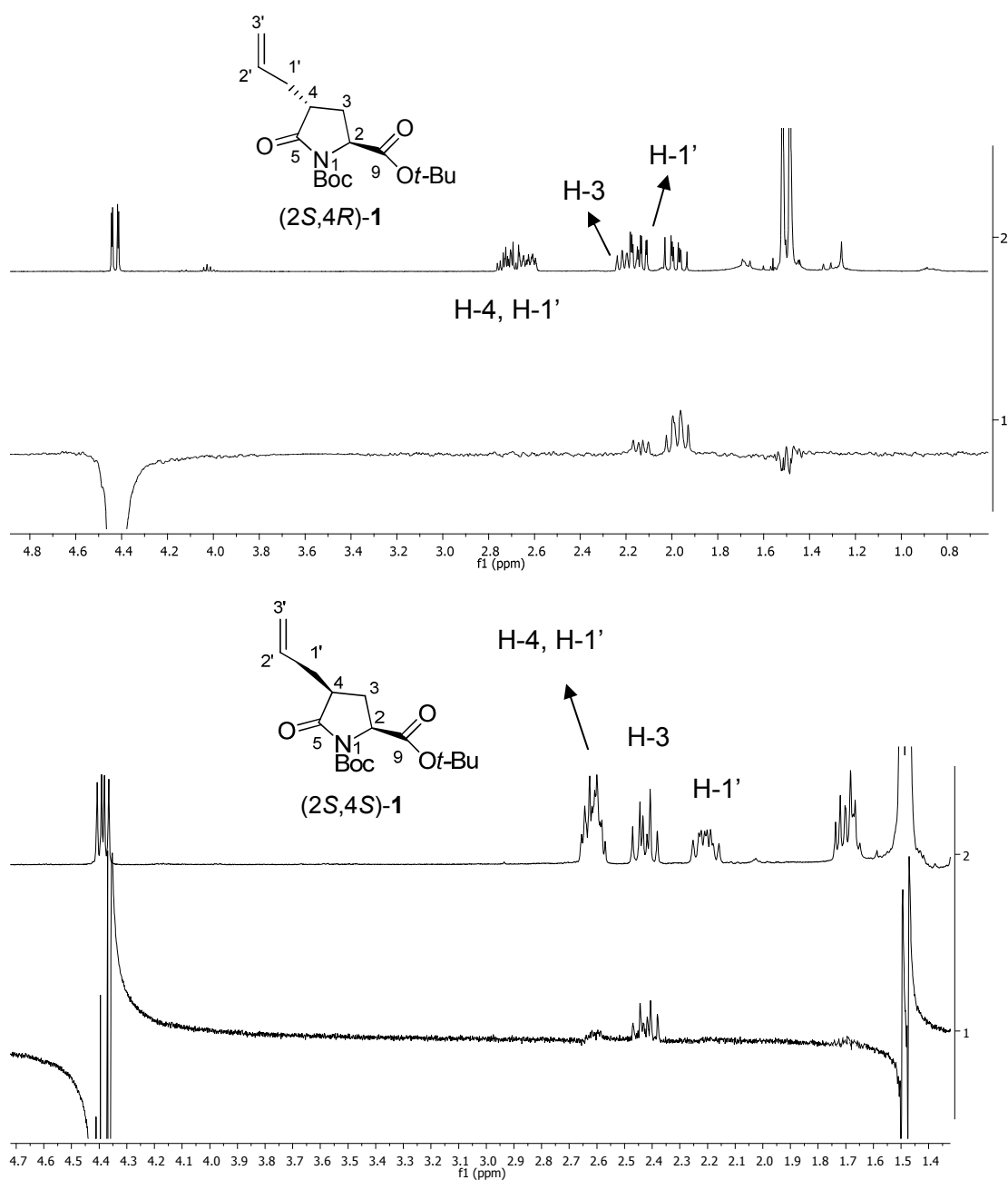


Figura 11: Espectres nOe enregistrats per (2S,4R)-1 i (2S,4S)-1.

Tot i que la resolució dels pics no és la millor possible, es va poder comprovar que pel diastereoisòmer (2S,4R)-1, en irradiar sobre el senyal d'H-2, s'observava nOe sobre el protó H-1' a δ 2.15 i sobre el protó H-3 a δ 1.96. D'aquesta manera es va deduir que H-2 es troba pròxim en l'espai amb el protó H-1', és a dir, disposat en *cis* respecte la cadena al·lílica. En canvi, irradiant el senyal del protó H-2 del

diastereoisòmer (2*S*,4*S*)-1, s'observa nOe sobre un dels protons H-3 a δ 2.61 i sobre el protó H-4 a δ 2.43, el que ens permetria suposar que H-2 està en la mateixa direcció en l'espai que el protó H-4 i, per tant, en *trans* respecte la cadena al·lílica. Per entendre millor aquesta assignació, cal veure'n una perspectiva en 3D, com la que mostra la Figura 12.

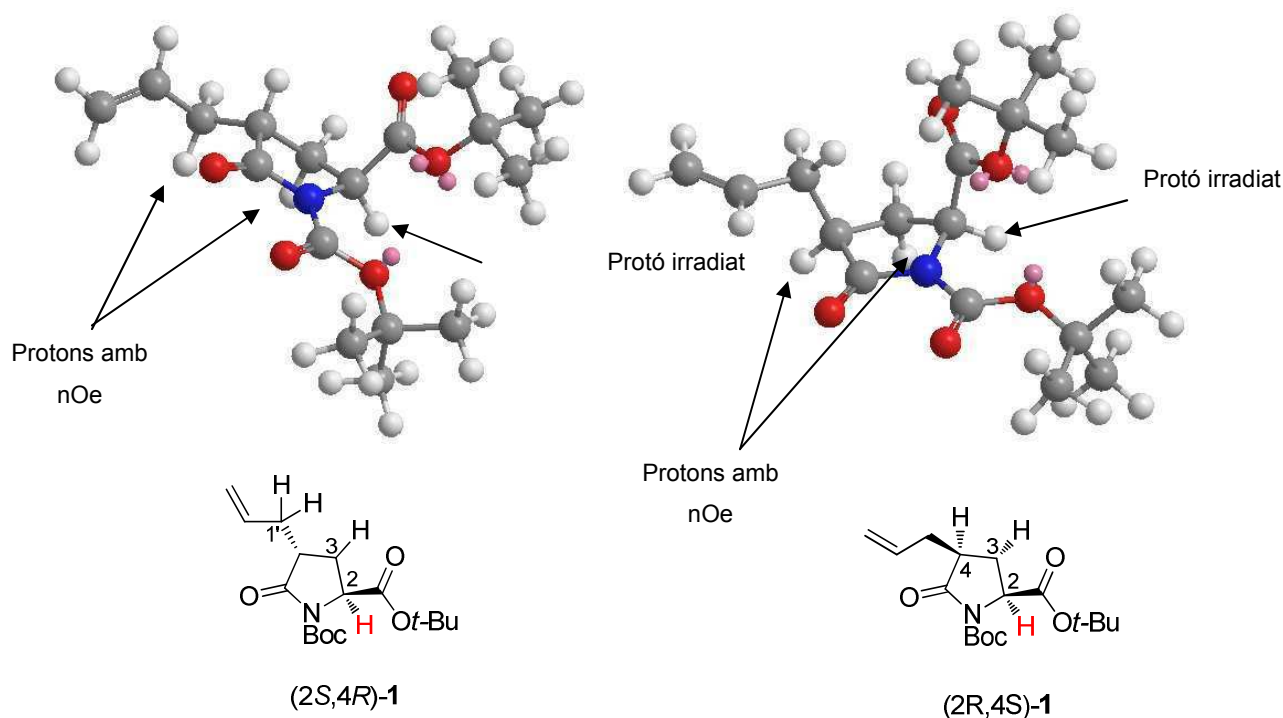


Figura 12: Imatges en 3D dels dos diastereoisòmers als que s'ha enregistrat un nOe selectiu.⁴⁴

3.3. Obtenció de l' àcid (2*R*)-2-[(2*S*)-3-*tert*-butoxi-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-oxopropil]-4-pentenoic, 7.

El següent pas sintètic plantejat per la ruta d'obtenció de la unitat glutamat **3** suposava l'obertura de l'anell de (2*S*,4*R*)-1 per a obtenir l'estructura tipus glutamat.

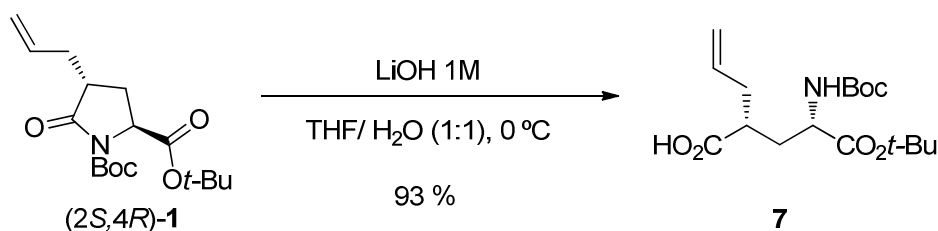
L'obertura del lactam mitjançant la hidròlisi bàsica de l'amida va ser descrita per Avent *et al.*,⁴⁵ que utilitzen LiOH com a base. Tot i que en el cas descrit en la bibliografia l'anell piroglutàmic no tenia cap substituent al·lílic en la posició α carbonílica del lactam, la reacció s'ha dut a terme en les mateixes condicions descrites en el mencionat precedent, tal i com es pot veure en l'Esquema 8. Després del tractament

⁴⁴ Dibuixos optimitzats generats mitjançant el programa Chem3D de ChemBioDraw Ultra.

⁴⁵ Avent, A.G. ; Duggan, H.M.E. ; Young, D.W. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 2327-2332

3. Resultats i discussió

del cru de reacció i la seva purificació mitjançant cromatografia en columna de gel de sílice, permet d'obtenir l'àcid **7** amb un rendiment del 93 %.



Esquema 8. Hidròlisi del lactam (2S,4R)-1.

L'espectre de ressonància magnètica nuclear de protó del l'intermedi **7** mostra l'aparició d'un nou senyal corresponent a l'hidrogen enllaçat al nitrogen carbàmic, en forma de doblet a δ 5.39, tal i com es mostra a la Figura 12. D'altra banda, en l'espectre de RMN de carboni, s'observa l'aparició del senyal del carboni de l'àcid carboxílic a δ 178.6 així com la desaparició del carboni lactàmic a δ 174.9.

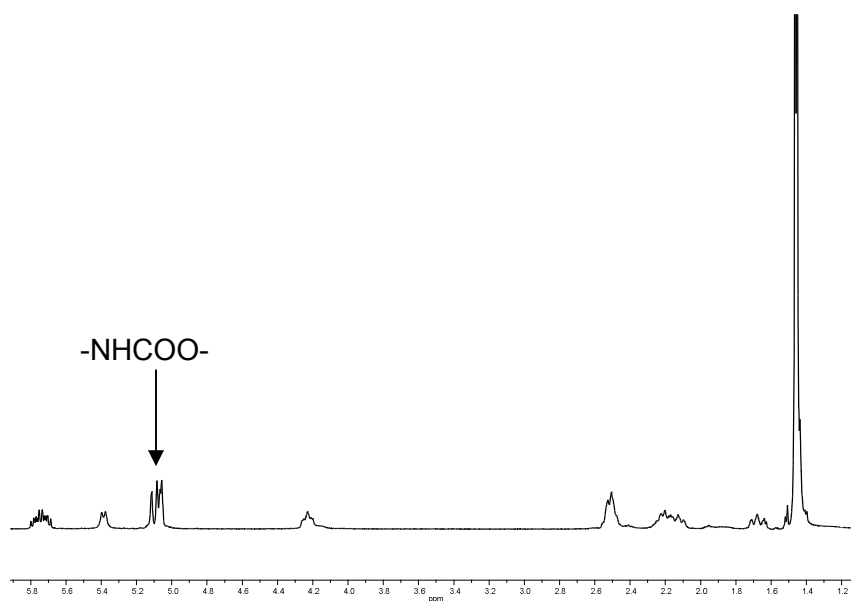


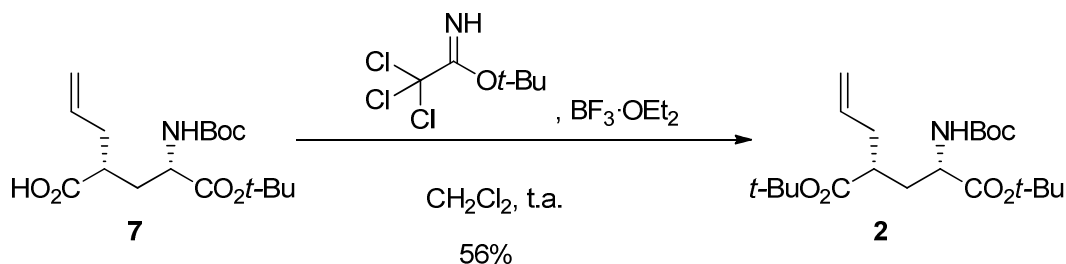
Figura 12. Espectre de ^1H RMN (250 MHz, CDCl_3) de **7**.

3.4. Obtenció de (2R,4S)-2-al·lil-4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]pentanodiodat de di-*tert*-butil, **2**.

El següent pas a ser plantejat en la nostra ruta sintètica consistia en la derivatització de l'àcid carboxílic de **7** en forma del corresponent èster *tert*-butílic.

Malauradament, en aquest cas es necessitaven unes condicions més suaus que les utilitzades en la protecció de l'àcid L-pirolutàmic, a l'inici de la síntesi. La reacció es va dur a terme utilitzant unes condicions semblants a les descrites per

Hefziba *et al.*,⁴⁶ per a un altre molècula, que utilitzaven 2,2,2-tricloroacetimidat de *tert*-butil i un àcid de Lewis com el $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ dissolts en diclorometà i ciclohexà. En el nostre cas, però, només es va utilitzar diclorometà com a dissolvent. Després del tractament del cru de reacció i la seva purificació mitjançant cromatografia en columna de gel de sílice, es va obtenir **2** amb un rendiment del 56 % (Esquema 9).



Esquema 9: Reacció d'obtenció de l'intermedi 2

L'espectre de ressonància magnètica nuclear de protó del producte obtingut presenta un nou senyal a δ 1.40 en forma de singlet i que integra 9 protons, confirmant així la formació de l'èster *tert*-butílic. Esdevé fonamental l'espectre de ressonància magnètica nuclear de carboni, ja que s'observa l'aparició d'un nou senyal en la zona dels carbonis quaternaris del *tert*-butil, al voltant dels δ 80.0, així com la disminució en el desplaçament químic del carboni carbonílic que passa de ser àcid a èster, de δ 178.6 a δ 173.9.

3.5. Obtenció de (2S,4R)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-4-[(*E*)-4-oxobut-2-en-1-il] pentanodioat de di-*tert*-butil, **6**.

Després de la derivatització de **7**, calia introduir un grup àcid carboxílic terminal a la cadena alquíllica. Per aquest motiu, el següent pas en la síntesi plantejada va ser una reacció de metàtesi del doble enllaç. El mètode triat va ser la metàtesi d'olefines de Grubbs. El catalitzador utilitzat va ser el de Hoveyda-Grubbs de 2a generació **10** (Figura 13).^{47, 48}

⁴⁶ Ten Brink, H. T.; Rijkers, D. T. S.; Liskamp, R. M. J. *J. Org. Chem.* **2006**, 71,1817.

⁴⁷ Schrock, R. R.; Hoveyda, A. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 4592–4633.

⁴⁸ Chen, J.R.; Li, C.F.; An, X.L.; Zhang J.J.; Zhu, X.Y.; Xiao, W.J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 2489-2492.

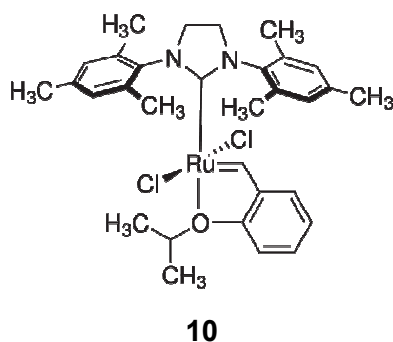
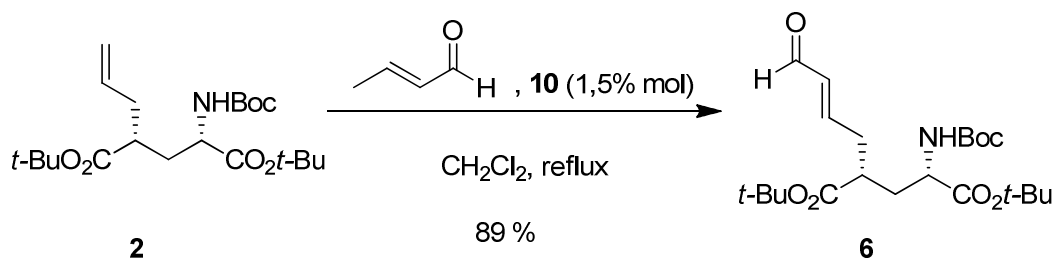


Figura 13: Catalitzador de Hoveyda-Grubbs de 2a generació, **10**.

La reacció utilitzant com a segona olefina l'àcid crotònic per tal d'introduir directament l'àcid carboxílic desitjat no va funcionar amb bons rendiments. Per aquest motiu, es va assajar la reacció de **2** i el crotonaldehyd (Esquema 10). Donat l'alt preu del catalitzador de Hoveyda-Grubbs de 2a generació, es va optimitzar aquesta reacció utilitzant la menor quantitat de **10**.



Esquema 10: Metàtesi d'olefines sobre el compost **2**.

D'aquesta manera, després del tractament del cru de reacció i la seva purificació mitjançant cromatografia en columna de gel de sílice, es va observar que utilitzant un 1% de **10** en relació molar respecte **2** s'obtenia un rendiment del 77 %, mentre que utilitzant-ne un 1.5%, es va assolir un rendiment del 89%, tal com es mostra a la Taula 2.

Relació molar de 10 respecte 2	Rendiment %
1%	77%
1.5%	89%

Taula 2: Condicions provades per optimitzar la utilització del catalitzador de Hoveyda-Grubbs, **10**, respecte **2** en la reacció de metàtesi d'olefines.

L'espectre de ressonància magnètica nuclear de protó del producte **6** presenta l'aparició d'un nou senyal en forma de doblet a δ 9.51, integrant un protó, característica

dels aldehids, tal com es pot observar en la Figura 14. Aquest nou senyal s'acobla amb el senyal del protó H-3', amb una constant de $J_{3',4'}=7.8$ Hz.

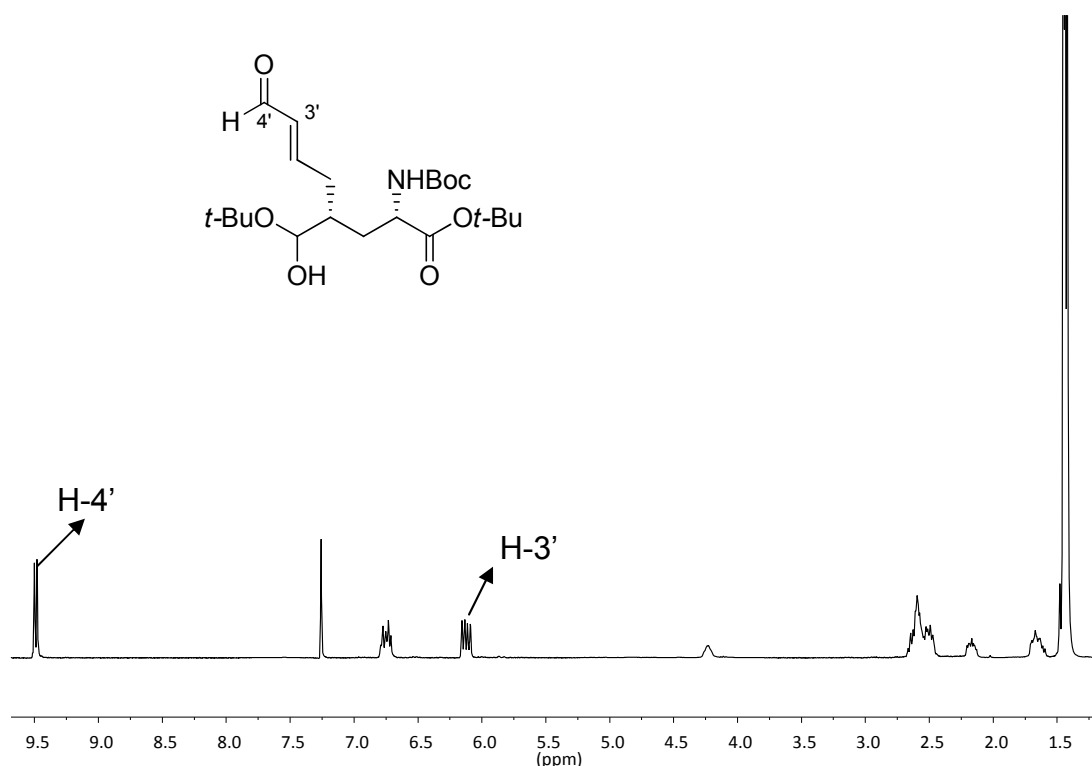


Figura 14: Espectre ^1H RMN (360 MHz, CDCl_3) de **6**.

D'altra banda, si ens fixem en l'espectre de ressonància magnètica nuclear de carboni d'aquest mateix producte **6**, observem l'aparició d'un nou senyal a δ 193.6 característica dels aldehids. A més a més, s'observa un augment en el desplaçaments químics dels carboni C-3', de δ 117.2 a δ 134.7, i C-2', de δ 135.0 a δ 154.4, pel fet d'haver passat de formar part d'una olefina terminal a una substituïda amb un grup electroatraient, tal com observem en la Figura 15.

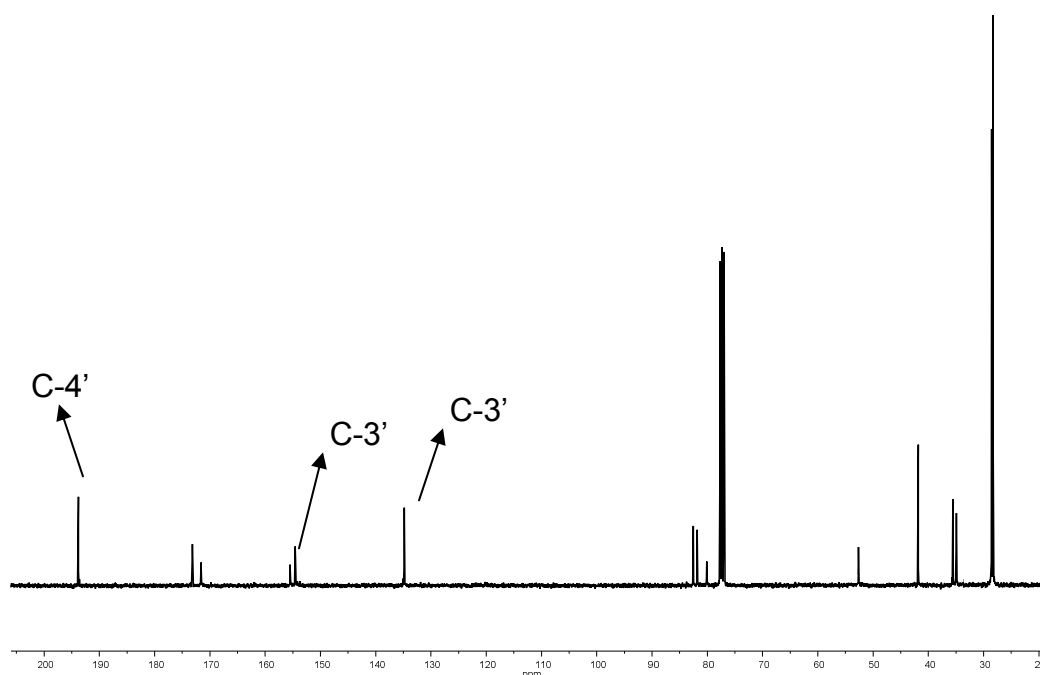


Figura 15: Espectre ^{13}C RMN (91 MHz, CDCl_3) de **6**.

3.6. Obtenció de l'àcid (2*E*,5*R*,7*S*)-8-*tert*-butoxi-5-(*tert*-butoxicarbonil)-7-[(*tert*-butoxicarbonil)amino-8-oxo-2-octenoic, **5**.

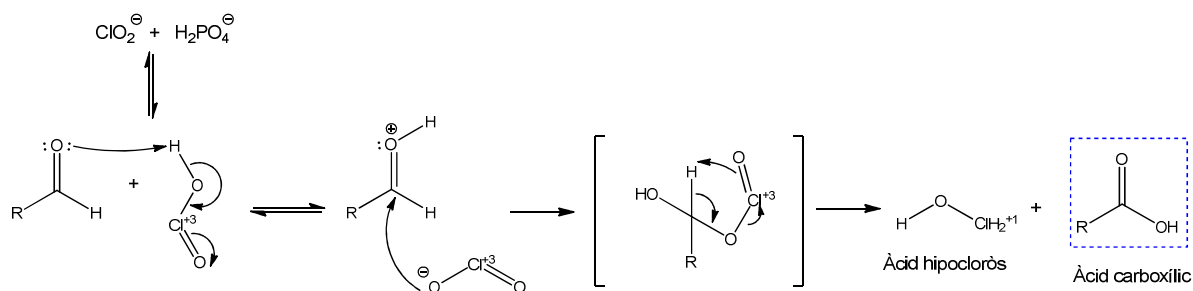
El següent pas de la ruta sintètica plantejada requeria l'oxidació de l'al·lehid a àcid carboxílic. Aquesta reacció ha estat àmpliament estudiada al llarg dels anys.⁴⁹ En aquest cas, però, s'ha centrat l'atenció en l'oxidació de Pinnick,⁵⁰ que té l'origen en l'oxidació de Lindgren.⁵¹

L'oxidació de Pinnick és especialment útil per a al·lehids α,β -insaturats, com és el nostre cas, i utilitza com a oxidant el clorit sòdic (Esquema 11).

⁴⁹ a) McKillop, A.; Kemp, D. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 3299-3306. b) Travis, B. R.; Sivakumar, M.; Hollist, G. O.; Borhan, B. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 1031-1034. c) Vora, H. U.; Rovis, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2860-2861.

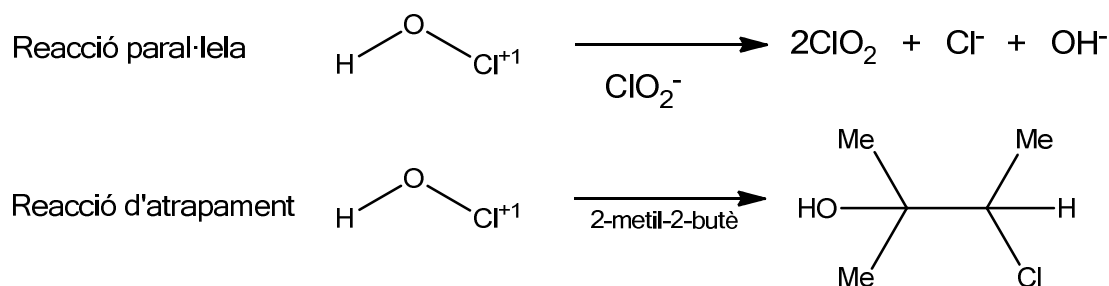
⁵⁰ Bal, B. S.; Childers, W. E.; Pinnick, H. W. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2091-2096.

⁵¹ Lindgren, B.O.; Nilsson, T.; Husebye, S.; Mikalsen, Ø.d; Leander, K.; Swahn, C-G. *Acta Chem. Scand.* **1973**, *27*, 888-890.



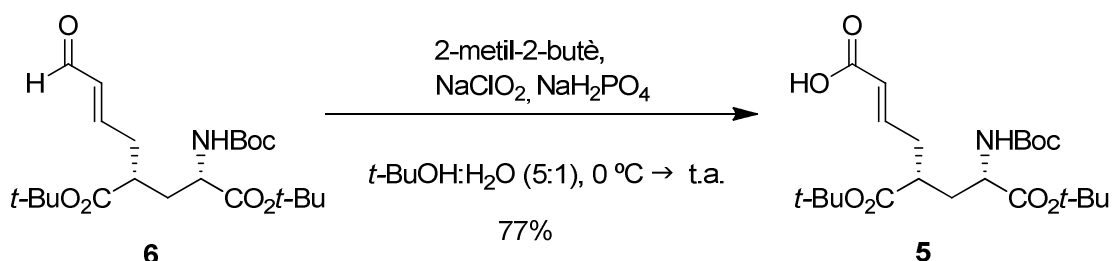
Esquema 11: Mecanisme de la reacció de Pinnick.

Durant la reacció, part de l'oxidant es perd per reacció amb $HOCl$, un subproducte de la reacció. És per aquest motiu que s'afegeix un atrapador, que és l'encarregat de reaccionar amb aquest subproducte que fa consumir el clorit. Aquest atrapador és el 2-metil-2-butè, que s'addiciona al $HOCl$, impedit així que aquest redueixi el clorit sòdic, tal i com es pot veure en l'Esquema 12.



Esquema 12: Reacció paral·lela a la reacció de Pinnick i reacció d'atrapament per part del 2-metil-2-butè.

Així doncs, la reacció d'obtenció de l'àcid carboxílic **5** es va dur a terme amb la metodologia proposada per Pinnick i després del tractament del cru de reacció i la seva purificació mitjançant cromatografia en columna de gel de sílice, es va obtenir l'àcid amb un rendiment del 77%, tal com es mostra en l'esquema 13.

Esquema 13: Oxidació de l'aldehyd **6** per a l'obtenció de l'àcid carboxílic α,β -insaturat **5**.

L'espectre de ressonància magnètica nuclear de protó del producte obtingut mostra la desaparició del senyal de l'aldehyd a δ 9.51. Novament, però, esdevé

3. Resultats i discussió

imprescindible l'espectre de ressonància magnètica nuclear de carboni per observar l'aparició d'un nou senyal a δ 174.5, confirmant la formació d'un nou carboni carboxílic. A més a més, observem la desaparició del senyal a δ 193.6 característica dels aldehids, tal com es pot observar a la Figura 16.

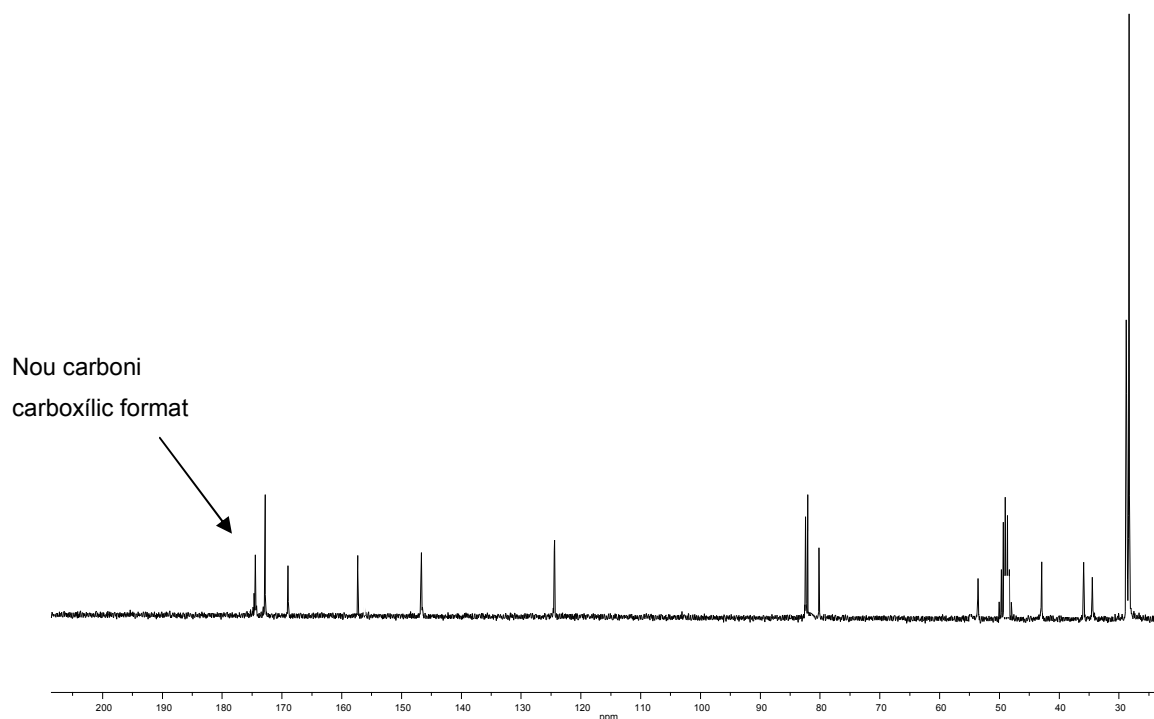


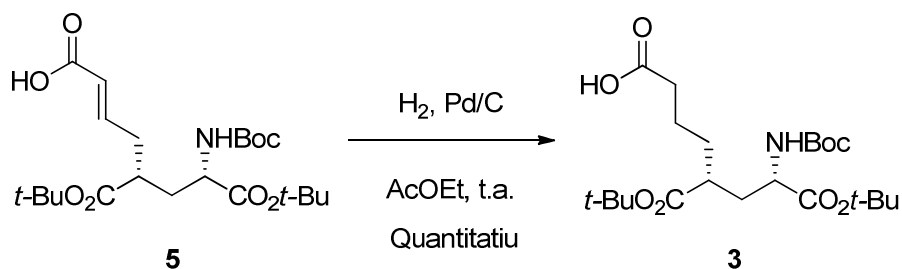
Figura 16: Espectre ^{13}C RMN (360 MHz, CD_3OD) de **5**.

3.7. Obtenció de l'àcid (5*R*,7*S*)-8-(*tert*-butoxi)-5-(*tert*-butoxicarbonil)-7-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-8-oxooctanoic, **3**.

El darrer pas d'aquesta ruta sintètica consistia en la reducció del doble enllaç de **5**. La hidrogenació de dobles enllaços és una de les reaccions de reducció més estudiades i és molt utilitzada per a l'obtenció d'enllaços simples carboni-carboni.⁵²

D'aquesta manera, amb l'objectiu de reduir l'insaturació de **5** s'han utilitzat unes condicions d'hidrogenació suaus a pressió atmosfèrica amb pal·ladi sobre carboni com a catalitzador, tal com s'observa en l'Esquema 14. La reacció va durar tota la nit. Un cop purificat el cru de reacció, el rendiment obtingut va ser quantitatiu.

⁵² Clayden, J. Organic Chemistry. Oxford University Press: Oxford. **2001**.



Esquema 14: Reducció del doble enllaç de l'intermedi **5** per a l'obtenció del producte final **3**.

L'espectre de ressonància magnètica nuclear de protó del producte final obtingut mostra la desaparició dels senyals corresponents al doble enllaç de l'intermedi **5**, a δ 6.86 i 5.84. A més a més, apareix un triplet de doblets a δ 2.30, que integra a 2 protons i que, gràcies als espectres HSQC i COSY enregistrats, es pot assegurar que corresponen a la posició α -carbonílica (H-2), tal i com es mostra a la Figura 17. A més a més, en l'espectre de ressonància magnètica nuclear de carboni, s'observa la desaparició dels dos carbonis que formaven la insaturació de la molècula **5** a δ 146.7 i 124.4.

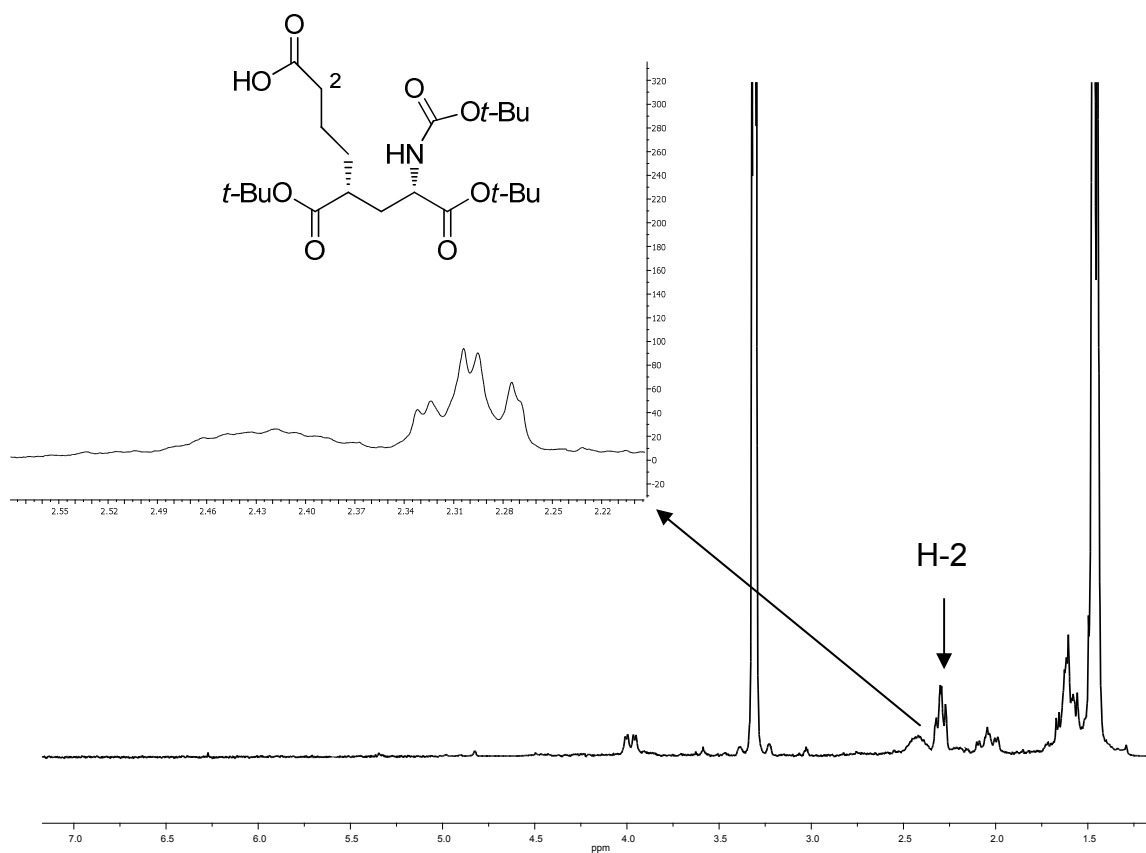


Figura 17: Espectre ^1H RMN (360 MHz, CD_3OD) de **3**.

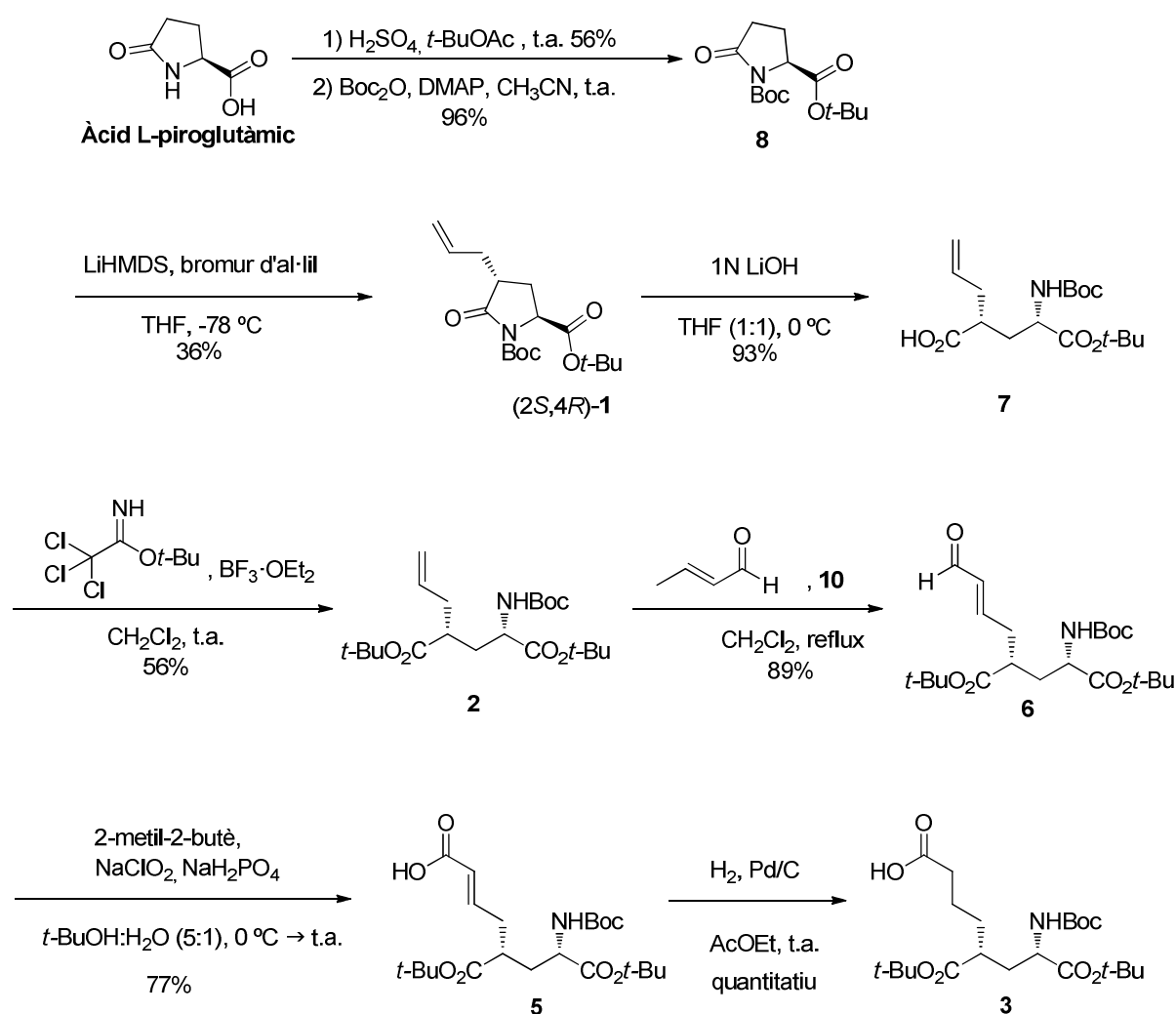
3. Resultats i discussió

A més a més, en l'espectre de ressonància magnètica nuclear de carboni, s'observa l'absència dels dos carbonis que formaven la insaturació de la molècula **5** a δ 146.7 i 124.4.

4. CONCLUSIONS

En aquest treball de recerca s'ha sintetitzat un nou fragment tipus glutamat per a la posterior utilització com a part de diversos interruptors moleculars per a controlar el funcionament del receptor iGluR de canals iònics cel·lulars. En l'Esquema 14 es mostra el resum de la seqüència sintètica desenvolupada.

Aquest fragment s'ha generat a partir d'un compost comercial com és l'àcid *L*-piroglutàmic mitjançant una ruta sintètica de 8 passos i amb un rendiment global del 7%. Ha estat clau l'obtenció de l'intermedi (2*S*,4*R*)-1, en escala multigram i amb rendiments reproduïbles.



Esquema 14: Resum de la seqüència sintètica realitzada.

El procés desenvolupat permet la síntesi de fragments de glutamat amb tots els grups funcionals protegits, per tal de facilitar la seva introducció en l'interruptor molecular.

5. PART EXPERIMENTAL

5.1. Materials i mètodes de caracterització estructural

Espectroscòpia

Els espectres de Ressonància Magnètica Nuclear (RMN) han estat enregistrats al *Servei de Ressonància Magnètica Nuclear* de la *Universitat Autònoma de Barcelona*. Els espectres de protó de 250 MHz han estat enregistrats amb un aparell *Bruker* DPX250, els espectres de protó de 360 MHz amb un aparell *Bruker* DPX-360 i els espectres de protó de 400 MHz, fluor de 400 MHz i carboni de 100.6 MHz amb un aparell *Bruker* AVANCEIII-400. Tots ells han estat enregistrats a una temperatura de 298 K.

Els desplaçaments es donen en δ (ppm), utilitzant com a referència interna el propi dissolvent residual no deuterat. Les abreviatures utilitzades per descriure la multiplicitat dels senyals observats són les següents: s (singlet), d (doblet), dd (doble doblet), t (triplet), tt (triple triplet), m (multiplet). L'abreviatura J s'utilitza per indicar les constants d'acoblament.

Els espectres d'infraroig (IR) han estat enregistrats en un espectrofotòmetre model Tensor 27 (*Bruker*) equipat amb un accessori ATR model MKII Golden Gate (*Specac*) amb finestra de diamant amb una sola reflexió.

Els espectres d'absorció electrònica ultraviolat visible (UV-Vis) s'han enregistrat al *Servei d'Anàlisi Química* de la *Universitat Autònoma de Barcelona*, utilitzant un espectròmetre model 8453 de la marca *Hewlett-Packard*. En tots els casos, les mostres es van mesurar en dissolució, utilitzant cubetes de quars d'un centímetre de camí òptic i dissolvents de qualitat espectroscòpica.

Cromatografia

Les cromatografies en capa fina han estat efectuades sobre cromofolis *Alugram Sil G/UV₂₅₄* de 0.25 mm de gruix. El revelat de les mateixes s'ha realitzat sota una làmpada de llum ultraviolada de 254 nm i/o amb una dissolució saturada de molibdat de ceri (IV) amb posterior escalfament.

Les cromatografies en columna s'han realitzat seguint la tècnica flaix, emprant gel de sílice de 230-400 mesh o gel de sílice tipus *Baker* de 40 μm com a fase

estacionària. La fase mòbil s'indica en cada cas. La fase mòbil es troba indicada en cada cas.

Punts de fusió

Els punts de fusió s'han determinat en un bloc kofler de la marca Reichert i no han estat corregits.

Dissolvents anhidres

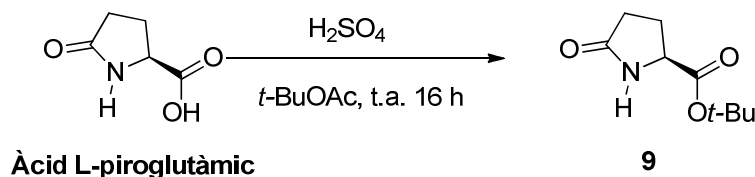
Per a les reaccions sensibles a la presència d'aigua, els dissolvents han estat prèviament anhidritzats.

Espectrometria de masses

Els espectres de masses d'alta resolució (HRMS) han estat enregistrats al Servei d'Anàlisi Química de la *Universitat Autònoma de Barcelona*, utilitzant tècniques d'ionització per electroesprai (ESI).

5.2. Síntesi del fragment de glutamat

5.2.1. Síntesi (S)-5-oxopirrolidina-2-carboxilat de *tert*-butil, 9.



En un matràs de fons rodó de 250 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica, es dissolen 5.77 g (43.9 mmol) l'àcid L-pirolglutàmic, en 70 ml d'acetat de *tert*-butil. Es deixa agitar la solució durant 15 minuts i s'afegeixen 3.7 ml (95% en aigua, 73.1 mmol) d' H_2SO_4 . La mescla de reacció s'agita durant 16 h més a temperatura ambient.

Transcorregut aquest temps la solució s'addiciona lentament sobre 250 ml de solució saturada de NaHCO_3 , fins arribar a pH= 5-6. El producte s'extreu amb AcOEt (4 x 150 ml). Es combinen les fases orgàniques i aquestes s'assequen amb Na_2SO_4 anhidre. Tot seguit es filtra i s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda, obtenint 4.56 g (24.6

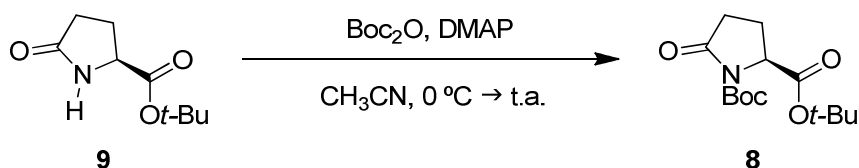
5. Part experimental

mmol, 56%) d'un sòlid blanc identificat com a (S)-5-oxopirrolidina-2-carboxilat de *tert*-butil, **9**.³⁷

Dades espectroscòpiques de **9**:

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 6.97 (s, 1H, H-1), 4.14 (m, 1H, H-2), 2.39 (m, 3H, H-3, H-4), 2.17 (m, 1H, H-4'), 1.47 (s, 9H, -C(CH₃)₃).

5.2.2. Síntesi de (S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, **8**.



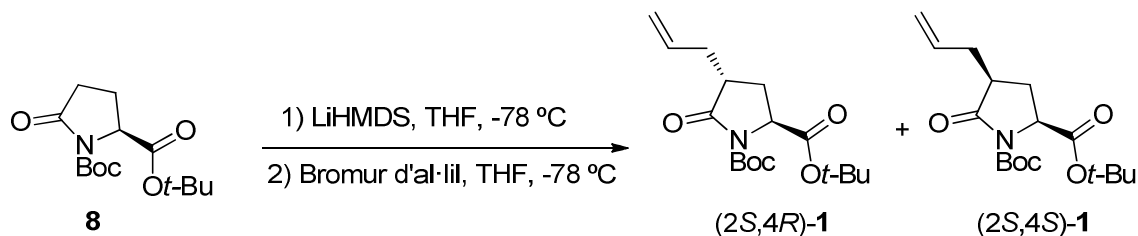
En un Schlenck de 250 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera d'argó, es dissolen 3.60 (19.4 mmol) de (S)-5-oxopirrolidina-2-carboxilat de *tert*-butil, **9**, en 90 ml d'acetonitril i es refreda a 0 °C. Seguidament, s'addicionen 0.48 g (3.89 mmol) de DMAP i 6.36 g (29.2 mmol) de carbonat de di-*tert*-butil. La solució es deixa agitant durant 30 min a 0 °C i durant 2 h a temperatura ambient. L'evolució de la reacció es segueix per cromatografia en capa prima (hexà/ AcOEt 2:1).

Transcorregut aquest temps, s'evapora el dissolvent del fins a sequedat per obtenir un oli ataronjat. Es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (2:1 hexà/AcOEt) obtenint-se 5.30 g (18.6 mmol, 96%) d'un sòlid blanc identificat com (S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, **8**.³⁷

Dades espectroscòpiques de **8**:

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 4.47 (dd, *J* = 9.3, 2.7 Hz, 1H, H-1), 2.43 (m, 3H, H-3, H-4), 1.99 (m, 1H, H-4'), 1.53 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.45 (s, 9H, -C(CH₃)₃).

5.2.3. Síntesi de (2S,4R)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, (2S,4R)-1 i de (2S,4S)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, (2S,4S)-1.



En un Schlenck de 250 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica, i sota atmosfera de nitrogen, es dissolen 3.10 g (10.9 mmol) de (*S*)-5-oxopirrolidina-1,2-carboxilat de di-*tert*-butil, **8**, en 40 ml de THF anhidre. S'addicionen, en un interval de 25 min, 11.90 ml (11.94 mmol) de LiHMDS en THF 1 M i es deixa agitar durant una hora a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Per una altra banda, en un Schlenck de 100 ml proveït d'agitació magnètica, i sota atmosfera de nitrogen, es dissolen 2.4 ml (43.43 mmol) de bromur d'al·lil en 30 ml de THF anhidre a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Transcorreguda una hora, aquesta solució s'addiciona via cànula a l'anterior en un interval de 15 minuts, es deixa agitar durant 4 hores a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'evolució de la reacció es segueix per cromatografia en capa prima (hexà/ AcOEt 3:1).

Transcorregut aquest temps, s'afegeixen 30 ml d'una solució aquosa saturada de NH_4Cl . El producte s'extreu amb èter dietílic (3 x 50 ml). Es combinen les fases orgàniques i aquestes s'assequen amb Na_2SO_4 anhidre. Tot seguit es filtra i s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda, obtenint un oli ataronjat. Es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (gradient d'elució 20:1 a 4:1 hexà/ AcOEt) obtenint-se 1.30 g (3.96 mmol, 36%) d'un sòlid de color marró identificat com a (2S,4R)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, (2S,4R)-1 i 0.39 g (0.34 mmol, 11%) de (2S,4S)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, (2S,4S)-1.

Dades espectroscòpiques de (2S,4R)-1:

$^1\text{H NMR}$ (360 MHz, CDCl_3) δ 5.74 (ddt, $J = 17.0, 10.1, 6.9\text{ Hz}$, 1H, H-2'), 5.08 (m, 2H, H-3'), 4.41 (dd, $J = 9.6, 1.6\text{ Hz}$, 1H, H-2), 2.66 (m, 2H, H-1', H-4), 2.15 (m, 2H, H-1', H-3), 1.97 (ddd, $J = 13.4, 11.4, 9.6\text{ Hz}$, 1H, H-3), 1.52 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.48 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$). Es va registrar un espectre nOe selectiu irradiant la senyal al protó H-2 a δ

5. Part experimental

4.41 observant nOe a δ 2.15 corresponent a un dels protons H-1' i a δ 1.96 corresponent a un dels protons H-3.

^{13}C NMR (91 MHz, CDCl_3) δ 174.6 (C-5), 170.5 (C-9), 149.5 (-NHCOO-), 134.5 (C-2'), 117.7 (C-3'), 83.4 (-C(CH₃)₃), 82.4 (-C(CH₃)₃), 57.9 (C-2), 41.2 (C-4), 34.6 (C-1'), 28.04 (-C(CH₃)₃), 28.0 (C-3).

$[\alpha]_D^{20} = -20.4$ (c 0.97, CH_2Cl_2)

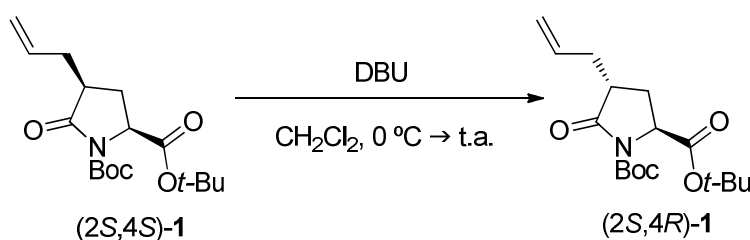
Dades espectroscòpiques de (2S,4S)-1:

^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) δ 5.72 (dddd, $J = 16.5, 10.5, 7.7, 5.9$ Hz, 1H, H-2'), 5.06 (m, 2H, H-3'), 4.39 (dd, $J = 9.3, 5.7$ Hz, 1H, H-2), 2.61 (m, 2H, H-1', H-4), 2.43 (dt, $J = 13.4, 9.4$ Hz, 1H, H-3A), 2.21 (m, 1H, H-1'), 1.70 (dt, $J = 13.5, 5.7$ Hz, 1H, H-3B), 1.49 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.47 (s, 9H, -C(CH₃)₃). Es va registrar un espectre nOe selectiu irradiant la senyal al protó H-2 a δ 4.39 observant nOe a δ 2.61 corresponent al protó H-3 i a δ 2.43 corresponent al protó H-4.

^{13}C NMR (91 MHz, CDCl_3) δ 174.9 (C-5), 170.7 (C-9), 149.6 (-NHCOO-), 134.9 (C-2'), 117.7 (C-3'), 83.5 (-C(CH₃)₃), 82.2 (-C(CH₃)₃), 58.2 (C-2), 42.2 (C-4), 35.5 (C-1'), 28.0 (-C(CH₃)₃), 26.4 (C-3).

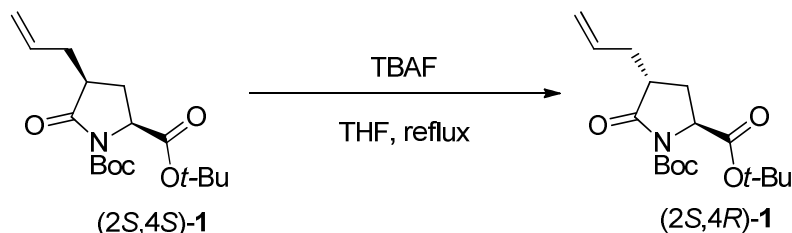
$[\alpha]_D^{20} = -4.1$ (c 2.96, CH_2Cl_2)

5.2.4. Epimerització de (2S,4S)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, (2S,4S)-1.



En un matràs de fons rodó de 10 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica es dissolen 110 mg (0.34 mmol) de (2S,4S)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, (2S,4S)-1, en 3 ml de CH_2Cl_2 a 0 °C. S'addicionen lentament 0.20 ml (1.35 mmol) de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en, DBU. Es deixa la mescla de reacció agitant durant 2 dies.

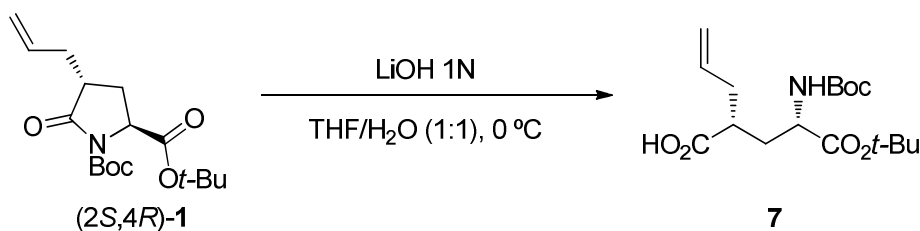
Transcorregut aquest temps, es dilueix la mescla de reacció afegint 5 ml de CH_2Cl_2 . Es fan rentades amb HCl 10% (2 x 10 ml), H_2O (10 ml) i solució saturada de NaCl (10 ml). S'asseca la fase aquosa amb Mg_2SO_4 anhidre. Tot seguit es filtra i s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda, obtenint un oli marró. Es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (10:1 hexà/AcOEt) obtenint-se 15 mg (0.046 mmol, 15%) d'un sòlid de color marró identificat com de (2*R*,4*S*)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat di-*tert*-butil, (2*S*,4*R*)-1.



En un matràs de fons rodó de 25 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica es dissolen 200 mg 0.61 mmol) de (2*S*,4*S*)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat de di-*tert*-butil, (2*S*,4*S*)-1, en 3 ml de CH_2Cl_2 a 0 °C. S'addicionen 0.65 ml (0.65 mmol) de fluorur de tetrabutilamoni, TBAF, i es deixa refluïnt durant 1.5 h. L'evolució de la reacció es segueix per cromatografia en capa prima (hexà/ AcOEt 3:1).

Transcorregut aquest temps, s'afegeixen 10 ml d'una solució aquosa saturada de NH_4Cl . El producte s'extreu amb AcOEt (2 x 10 ml). Es combinen les fases orgàniques i aquestes s'assequen amb Mg_2SO_4 anhidre. Tot seguit es filtra i s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda, obtenint un oli marró. Es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (10:1 hexà/AcOEt) obtenint-se 69 mg (0.21 mmol, 35%) d'un sòlid de color marró identificat com de (2*R*,4*S*)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat di-*tert*-butil, (2*S*,4*R*)-1.

5.2.5. Síntesi de l'àcid (2*R*)-2-[(2*S*)-3-*tert*-butoxicarbonil-2-[(*tert*-butoxicarbonil) amino]-3-oxopropil]-4-pentenoic, 7.



5. Part experimental

En un matràs de fons rodó de 250 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica es dissolen 1.80 g (5.53 mmol) de (2R,4S)-4-al·lil-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilat di-*tert*-butil, (2S,4R)-1, en 40 ml de THF i 32 ml d'H₂O. Es refreda la solució a 0 °C i s'addicionen 8 ml de LiOH 1N (8 mmol). Es deixa la reacció agitant durant 1 h a 0 °C. L'evolució de la reacció es segueix per cromatografia en capa prima (hexà/ AcOEt 2:1).

Transcorregut aquest temps, s'afegeix una solució d'HCl 5% fins arribar a pH 2-3. El producte s'extreu amb AcOEt (3 x 50 ml). Es combinen les fases orgàniques i aquestes s'assequen amb Mg₂SO₄ anhidre. Tot seguit es filtra i s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda, obtenint un oli groc. Es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (3:1 hexà/AcOEt) obtenint-se 1.78 g (5.18 mmol, 93%) d'un sòlid de color groc identificat com a àcid (2R)-2-[(2S)-3-*tert*-butoxi-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-oxopropil]-4-pentenoic, **7**.

Dades físiques i espectroscòpiques de 7:

¹H NMR (360 MHz, CDCl₃) δ 5.74 (m, 1H, H-4), 5.39 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, -NHCOO-), 5.1 (m, 2H, H-5), 4.22 (m, 1H, H-2'), 2.50 (m, 2H, H-2, H-3), 2.17 (m, 2H, H-1'B, H-3), 1.67 (t, *J* = 13.4 Hz, H-1'A), 1.45 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.45 (s, 9H, -C(CH₃)₃).

¹³C NMR (91 MHz, CDCl₃) δ 178.6 (C-1), 171.3 (C-3'), 156.2 (-NHCOO-), 134.9 (C-4), 117.8 (C-5), 82.7 (-C(CH₃)₃), 80.7 (-C(CH₃)₃), 52.7 (C-2'), 41.8 (C-2), 36.4 (C-1'), 35.2 (C-3), 28.4 (-C(CH₃)₃), 28.1 (-C(CH₃)₃).

[α]_D²⁰ = -0.8 (c 1.4, CH₂Cl₂)

IR (ATR) = 2978 (ν_{CH₃}), 1707 (ν_{C=O}), 1366 (ν_{CH₃}), 1149 (ν_{C=O}), 754 (ν_{NHC=O}).

HMRS *m/z* (ESI+) C₁₇H₂₉NO₆

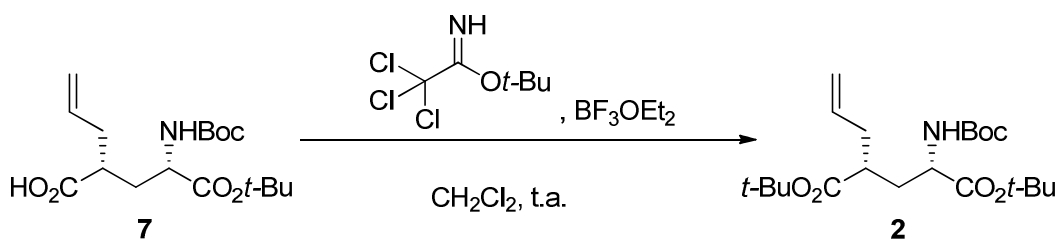
Calculada: 366.1887 (MNa⁺)

Experimental: 366.1893 (MNa⁺)

P.F.: 59-65 °C

S'ha enregistrat espectre HSQC.

5.2.6. Síntesi de (2*R*,4*S*)-2-al·lil-4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino] pentanodiodat de di-*tert*-butil, 2.



En un Schlenck de 250 ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera d'argó, es dissolen 3.50 g (7.28 mmol) de àcid (2*R*)-2-[(2*S*)-3-*tert*-butoxi-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-oxopropil]-4-pentenoic, **7**, en 90 ml de CH₂Cl₂ anhidre, 2.61 ml (14.6 mmol) de 2,2,2- tricloroacetimidat de *tert*-butil i 370 µl (2.96 mmol) de BF₃OEt₂. Es deixa la reacció agitant durant 3 h. L'evolució de la reacció es segueix per cromatografia en capa prima (hexà/ AcOEt 3:1).

Transcorregut aquest temps, s'afegeixen 20 ml d'una solució de saturada NaHCO₃/H₂O (1:1). El producte s'extreu amb CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Es combinen les fases orgàniques i aquestes s'assequen amb Mg₂SO₄ anhidre. Tot seguit es filtra i s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda, obtenint un oli groc. Es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (3:1 hexà/AcOEt) obtenint-se 1.64 g (4.10 mmol, 56%) d'un sòlid de color groc identificat com a (2*R*,4*S*)-2-al·lil-4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino] pentanodiodat de di-*tert*-butil, **2**.

Dades físiques i espectroscòpiques de 2:

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 5.67 (m, 1H, H-4), 4.99 (m, 1H, H-5, N-H), 4.19(m, 1H, H-2'), 2.33 (m, 2H, H-2, H-3A), 2.12 (m, 2H, H-1, H-3B), 1.63 (m, 1H, H-1'), 1.41 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.41 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.39 (s, 9H, -C(CH₃)₃).

¹³C NMR (63 MHz, CDCl₃) δ 173.9 (C-1), 171.7 (C-3'), 155.3 (-NHCOO-), 135.0 (C-4), 117.2 (C-5), 81.8 (-C(CH₃)₃), 80.7 (-C(CH₃)₃), 79.5 (-C(CH₃)₃), 52.7 (C-2'), 42.2 (C-2), 36.9 (C-1'), 34.0 (C-3), 28.3 (-C(CH₃)₃), 28.1 (-C(CH₃)₃), 28.0 (-C(CH₃)₃).

[α]_D²⁰ = 10.7 (c 0.59, CH₂Cl₂)

5. Part experimental

IR (ATR) = 3382 ($\nu_{\text{N-H}}$), 2978 (ν_{CH_3}), 1702 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1149 ($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} .

HMRS m/z (ESI+) $\text{C}_{21}\text{H}_{37}\text{NO}_6$

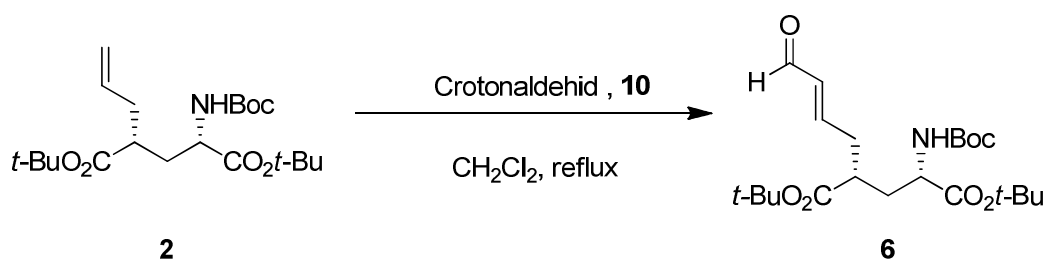
Calculada: 422.2513 (MNa^+)

Experimental: 422.2520 (MNa^+)

P.F.: 86-89 °C

S'ha enregistrat l'espectre COSY.

5.2.7. Síntesi de (2*S*,4*R*-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-4-[(*E*)-4-oxobut-2-en-1-il]pentanodioat) de di-*tert*-butil, 6.



En un baló de dues boques de ml de capacitat, proveït d'agitació magnètica i sota atmosfera d'argó, es dissolen 2.30 g (5.75 mmol) de (2*R*,4*S*)-2-allyl-4-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino] pentanodiodat di-*tert*-butil, **2**, en 36 ml de CH_2Cl_2 anhidre, 2.40 ml (28.78 mmol) de crotonaldehid i 56 mg (0.089 mmol) de catalitzador de Grubbs de 2a generació, **10**, i es deixa refluïnt durant 2.5 h. L'evolució de la reacció es segueix per cromatografia en capa prima (hexà/ AcOEt 3:1).

Transcorregut aquest temps, s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda i es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (gradient d'elució 3:1 a 1:1 hexà/ AcOEt) obtenint-se 2.19 g (5.12 mmol, 89%) d'un oli de color groc identificat com a (2*S*,4*R*) 2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-4-[(*E*)-4-oxobut-2-en-1-il] pentanodioat de di-*tert*-butil, **6**.

Dades físiques i espectroscòpiques de 6:

^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) δ 9.51 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H, H-4'), 6.77 (dt, $J = 15.9, 6.5$ Hz, 1H, H-2'), 6.14 (dd, $J = 15.7, 7.8$ Hz, 1H, H-3'), 4.24 (m, 1H, H-2), 2.61 (m, 3H, H-1', H-4), 2.19 (m, 2H, H-3), 1.68 (m, 1H, H-3), 1.45 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.42 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1.41 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

^{13}C NMR (91 MHz, CDCl_3) δ 193.6 (C-4'), 173.0 (C-5), 171.4 (C-1), 155.3 (-NHCOO-), 154.4 (C-2'), 134.7 (C-3'), 82.6 (-C(CH₃)₃), 81.9 (-C(CH₃)₃), 80.2 (-C(CH₃)₃), 52.8 (C-2), 41.9 (C-4), 35.6 (C-1'), 34.9 (C-3), 28.6 (-C(CH₃)₃), 28.3 (-C(CH₃)₃), 28.3 (-C(CH₃)₃).

$[\alpha]_D^{20} = 88.4$ (c 0.48, CH_2Cl_2)

HMRS m/z (ESI+) $\text{C}_{22}\text{H}_{37}\text{NO}_7$

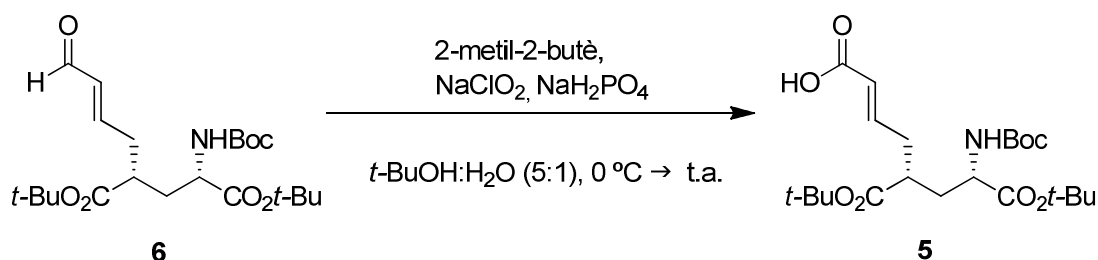
Calculada: 450.2462 (MNa^+)

Experimental: 450.2460 (MNa^+)

IR (ATR) = 2977 (ν_{CH_3}), 1698 ($\nu_{\text{C=O}}$), 1367, 1251 ($\nu_{\text{N-CO-O}}$), 1150 ($\nu_{\text{C=O}}$) cm^{-1} .

S'ha enregistrat l' espectre HSQC.

5.2.8. Síntesi de l' àcid (2*E*,5*R*,7*S*)-8-*tert*-butoxi-5-(*tert*-butoxicarbonil)-7-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-8-oxo-2-octenoic, 5.



En un matràs de fons rodó de 500 ml de capacitat proveït d'agitació magnètica, es dissolen 2.5 g (5.85 mmol) de (2*S*,4*R*) 2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-4-[(*E*)-4-oxobut-2-en-1-il] pentanodioat de di-*tert*-butil, **6**, en 200 ml de $t\text{-BuOH}$ i 40 ml d' H_2O , i es refreda a 0 $^\circ\text{C}$. S'afegeixen, per aquest ordre, 6.20 ml (58.5 mmol) de 2-metil-2-butè, 4.60 g (29.2 mmol) de NaH_2PO_4 i 3.17 g (35.1 mmol) NaClO_2 . Es deixa agitant durant 1 h a 0 $^\circ\text{C}$. Seguidament, es refreda a temperatura ambient i es deixa agitant la mescla de reacció durant 16 h.

Transcorregut aquest temps, s'afegeixen 30 ml d' H_2O i una solució saturada de NaHCO_3 fins a tenir un pH 7-8. El producte s'extreu amb AcOEt (3 x 50 ml). Es combinen les fases orgàniques i aquestes s'assequen amb Mg_2SO_4 anhidre. Tot seguit es filtra i s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda, obtenint un oli groc. Es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (4:1 hexà/ AcOEt + 1% d'àcid

5. Part experimental

acètic) obtenint-se 2.00 g (4.51 mmol, 77%) d'un oli de color groc identificat com a àcid (2*E*,5*R*,7*S*)-8-*tert*-butoxi-5-(*tert*-butoxicarbonil)-7-[(*tert*-butoxicarbonil)amino-8-oxo-2-octenoic, **5**.

Dades físiques i espectroscòpiques de **5**:

¹H NMR (250 MHz, CD₃OD) δ 6.86 (dt, *J* = 14.3, 7.1 Hz, 1H, H-3), 5.84 (dt, *J* = 15.4, 1.4 Hz, 1H, H-2), 4.03 (m, 1H, H-7), 2.59 (m, 1H, H-5), 2.40 (m, 2H, H-4), 2.07 (m, 1H, H-6B), 1.65 (m, 1H, H-6A), 1.46 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.45 (s, 9H, -C(CH₃)₃), 1.43 (s, 9H, -C(CH₃)₃).

¹³C NMR (63 MHz, CD₃OD) δ 174.5 (C-1), 172.8 (C-1'), 169.0 (C-8), 157.3 (-NHCOO-), 146.7 (C-6), 124.4 (C-7), 82.4 (-C(CH₃)₃), 82.1 (-C(CH₃)₃), 80.2 (-C(CH₃)₃), 53.6 (C-2), 42.9 (C-4), 35.9 (C-5), 34.4 (C-3), 28.8 (-C(CH₃)₃), 28.4 (-C(CH₃)₃), 28.3 (-C(CH₃)₃).

[α]_D²⁰ = 59.8 (c 1.16, CH₂Cl₂)

IR (ATR) = 2977 (ν_{CH₃}), 1703(ν_{C=O}), 1366(ν_{CH₃}), 1247(ν_{N-CO-O}), 1147(ν_{C=O}), 844, 753(ν_{NHC=O}) cm⁻¹.

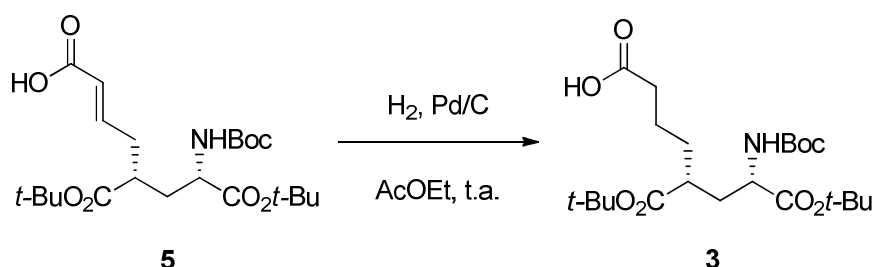
HMRS *m/z* (ESI+) C₂₂H₃₇NO₈

Calculada: 466.2411 (MNa⁺)

Experimental: 466.2417 (MNa⁺)

S'ha enregistrat els espectres COSY i HSQC.

5.2.9. Síntesi de l' àcid (5*R*,7*S*)-8-(*tert*-butoxi)-5-(*tert*-butoxicarbonil)-7-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-8-oxooctanoic, **3**.



En un matràs de fons rodó de 250 ml de capacitat proveït d'agitació magnètica es dissolen 1.50 g (3.38 mmol) de àcid (2*E*,5*R*,7*S*)-8-*tert*-butoxi-5-(*tert*-butoxicarbonil)-7-[(*tert*-butoxicarbonil)amino-8-oxo-2-octenoic, **5**, i 0.15 g (10% en pes) de Pd/C en 60

ml d'AcOEt. S'addiciona H_2 mitjançant globus a pressió atmosfèrica. Es deixa la mescla de reacció agitant durant 16 h.

Transcorregut aquest temps, es filtra el cru sobre celite i s'evapora el dissolvent sota pressió reduïda, obtenint un oli groc. Es purifica el cru amb una cromatografia en columna de gel de sílice (5:4 hexà/AcOEt + 1% d'àcid acètic) obtenint-se 1.50g (3.36 mmol, quantitatiu) d'un oli de color verd identificat com a àcid (5*R*,7*S*)-8-(*tert*-butoxi)-5-(*tert*-butoxicarbonil)-7-((*tert*-butoxicarbonil)amino)-8-oxooctanoic, **3**.

Dades físiques i espectroscòpiques de 3:

1H NMR (250 MHz, CD_3OD) δ 4.98 (dd, $J = 11.2, 3.7$ Hz, 1H, H-2), 2.42 (m, 1H, H-4), 2.30 (m, 2H, H-7), 2.05 (ddd, $J = 14.3, 11.3, 3.7$ Hz, 1H, H-3A), 1.59 (m, 5H, H-3, H-5, H-6), 1.47 (s, 9H, $-C(CH_3)_3$), 1.46 (s, 9H, $-C(CH_3)_3$), 1.45 (s, 9H, $-C(CH_3)_3$).

^{13}C NMR (91 MHz, CD_3OD) δ 176.8 (C-8), 175.9 (C-1), 173.3 (C-9), 157.8 ($-NHCOO-$), 82.5 ($-C(CH_3)_3$), 81.9 ($-C(CH_3)_3$), 80.3 ($-C(CH_3)_3$), 54.0 (C-2), 43.9 (C-4), 35.0 (C-3), 34.5 (C-7), 33.4 (C-5), 28.8 ($-C(CH_3)_3$), 28.4 ($-C(CH_3)_3$), 28.3 ($-C(CH_3)_3$), 23.6 (C-6).

$[\alpha]_D^{20} = 66$ (c 0.3, CH_2Cl_2)

IR (ATR) = 2976 (ν_{CH_3}), 1709 ($\nu_{C=O}$), 1366 (ν_{CH_3}), 1248 (ν_{N-CO-O}), 1146 ($\nu_{C=O}$), 845 cm^{-1} .

HMRS m/z (ESI+) $C_{22}H_{39}NO_8$

Calculada: 468.2568 (MNa^+)

Experimental: 468.2570 (MNa^+)

S'ha enregistrat els espectres COSY i HSQC.

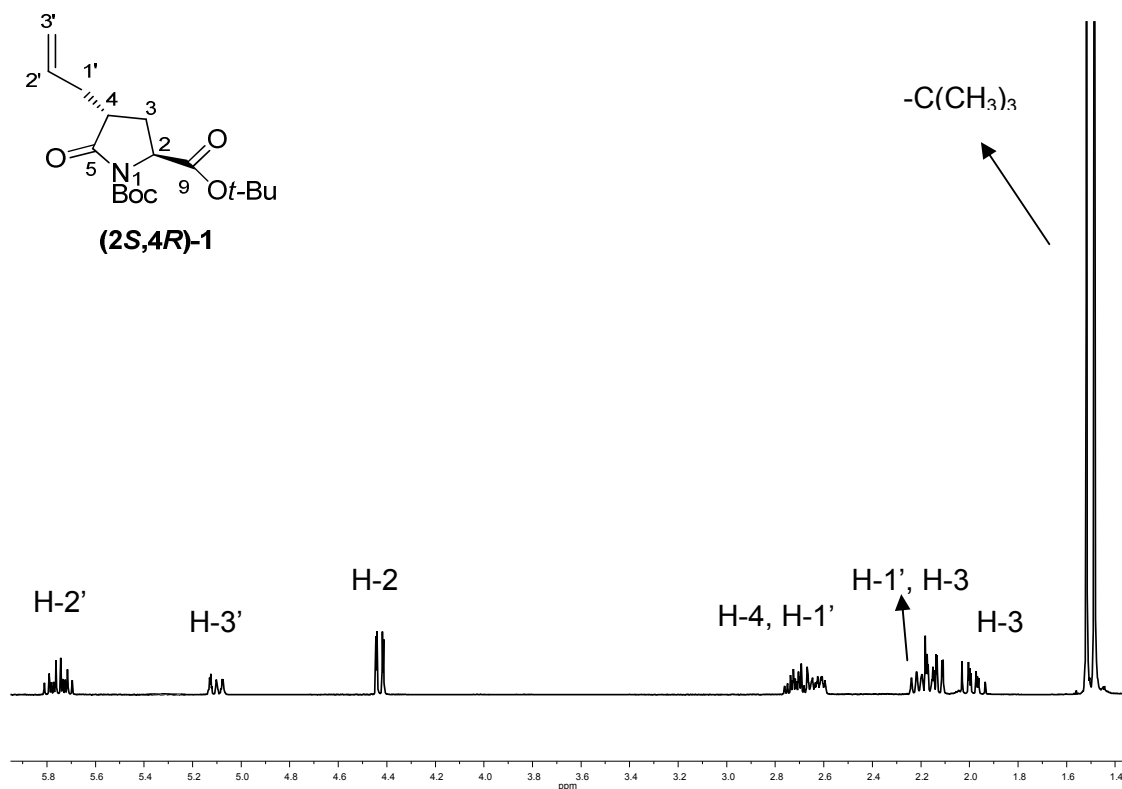
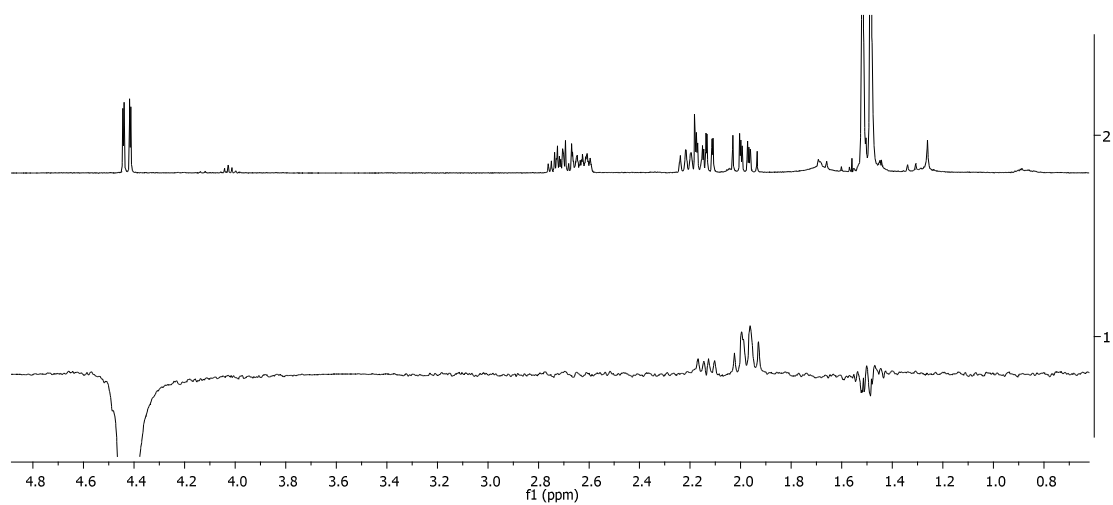
Índex de referències

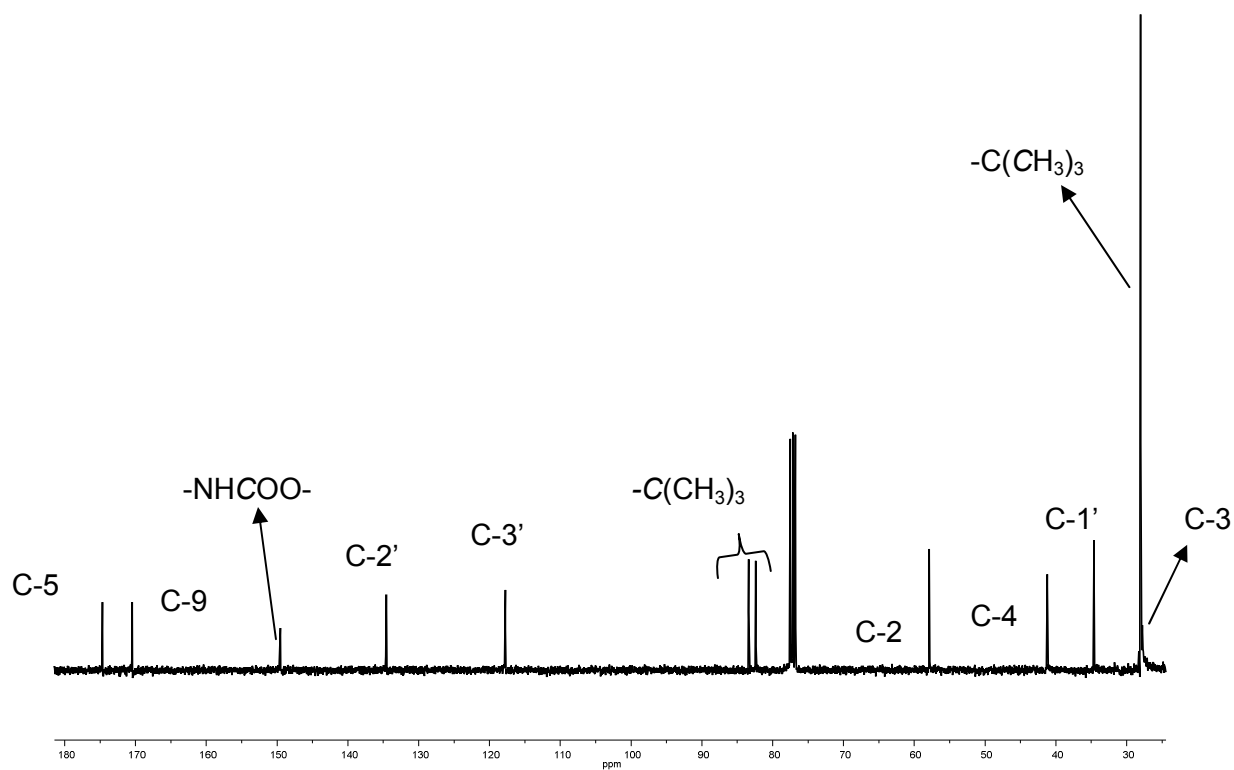
- ¹ Balzani, V.; Venturi, M.; Credi, A. *Molecular Devices and Machines*. VCH: Weinheim, Germany, **2003**.
- ² Brun, M. A.; Tan, K. T.; Griss, R.; Kielkowska, A.; Reymond, L.; Johnsson, K. J. *Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7676-7678.
- ³ MRC Centre for Synaptic Plasticity [Bristol]: University of Bristol, 2002. <http://www.bristol.ac.uk/synaptic/receptors/> [consulta: maig 2012].
- ⁴ Stryer, L.; Tymoczko, J.L.; Berg, J.M. *Bioquímica*. Editorial Reverté. 2007.
- ⁵ Halabieh, R.; Mermut, O.; Barrett, C. *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76*, 1445-1465.
- ⁶ Naoto, T.; Hiroshi, M. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1875-1890.
- ⁷ Henzl, J.; Mehlhorn, M.; Gawronski, H.; Rieder, K. H.; Morgenstern, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 603-606.
- ⁸ Murria, M.; Teat, S. J.; Stoeckli-Evans, H.; Gudel, H. V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4653-4653.
- ⁹ (a) de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; Gunnlaussón, T.; Huxley, A. J. M.; McCoy, C. P.; Rodemacher, J. T.; Rice, T. E. *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 1515-1566. (b) Irie, M. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1683-1684.
- ¹⁰ Callan, J. D.; de Silva, A. P.; McCleghaghan, N. D. *Chem. Commun.* **2004**, 2048-2049.
- ¹¹ Callan, J. F.; de Silva, A. P.; Magri, D. C. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 8551-8588.
- ¹² Van Delden, R. A.; Hurenkamp, J. H.; Feringa, B. L. *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 2845-2853.
- ¹³ Coulston, R. J.; Onagi, H.; Lincoln, S. F.; Easton, C. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14750-14751.
- ¹⁴ Deans, R.; Niemcz, A.; Breinlinger, E. C.; Rotello, V. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10863-10864.
- ¹⁵ (a) Bissell, R. A.; Cordova, E.; Kaifer, A. E.; Stoddart, J. F. *Nature* **1994**, *369*, 133-137. (b) Badjic, J. D.; Balzani, V.; Credi, A.; Silvi, S.; Stoddart, J. F. *Science* **2004**, *303*, 1845-1849.
- ¹⁶ (a) de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; McCoy, C. P. *Chem. Commun.* **1996**, 2399-2400. (b) Cao, Y. D.; Zheng, Q. Y.; Chen, C. F.; Huang, Z. T. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4751-4755.
- ¹⁷ (a) de Silva, A. P.; Gunaratne, H. Q. N.; McCoy, C. P. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 7891-7892. (b) de Silva, S. A.; Amorelli, B.; Isidor, D. C.; Loo, K. C.; Crooker, K. E.; Pena, Y. E. *Chem. Commun.* **2002**, 1360-1361.

- ¹⁸ Uchiyama, S.; Kawai, N.; de Silva, A. P.; Iwai, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3032-3033.
- ¹⁹ Folling, J.; Betov, V.; Kunetsky, R.; Medda, R.; Schonle, A.; Eggeling, C.; Bossi, M.; Hell, S. W. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6266-6270.
- ²⁰ Waldmann, H.; Wittinghofer, A. *Angew. Chem, Int. Ed.* **2000**, *39*, 4192-4214.
- ²¹ a) Pieroni, O.; Fissi, A.; Angelini, N.; Lenci, F. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *31*, 9-17. (b) Renner, C.; Kusebauch, U.; Loweneck, M.; Milbradt, A.G.; Moroder, L. *J. Peptide Res.* **2005**, *65*, 4-14. (c) Jurt, S.; Aemissegger, A.; Guntert, P.; Zerbe, O.; Hilvert, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 6297-6300. (d) Moroder, L.; Renner, C. *Chem. Bio. Chem.* **2006**, *7*, 868-878.
- ²² (a) Iftime, G.; Labarthe, F. L.; Natansohn, A.; Rochon, P. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 12646-12650. (b) Natansohn, A.; Rochon, P. *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 4139-4176.
- ²³ Blaustein R. O.; Cole P. A.; Williams C.; Miller C. *Nat. Struct. Biol.* **2000**, *7*, 309-311.
- ²⁴ Bortolus P.; Monti S. *J. Phys. Chem.* **1979**, *83*, 648-652.
- ²⁵ Gorostiza, P.; Isacoff, E. Y. *Science* **2008**, *322*, 395-399.
- ²⁶ Gorostiza, P.; Isacoff, E. Y. *Mol. Biosyst.* **2007**, *3*, 686-704.
- ²⁷ Lester, H. A.; Krouse, M. E.; Nass, M. M.; Wassermann, N.H.; Erlanger, B. F. *J. Gen. Physiol.* **1980**, *75*, 207-232.
- ²⁸ Szobota, S.; Gorostiza, P.; Del Bene, F.; Wyart, C.; Fortin, D. L.; Kolstad, K. D.; Tulyathan, O.; Volgraf, M.; Numano, R.; Aaron, H.L.; Scott, E. K.; Trauner, D.; Isacoff, E. Y. *Neuron* **2007**, *54*, 535-545.
- ²⁹ Harada, T.; Harada, C.; Nakayama, N.; Okuyama, S.; Yoshida, K.; Kohsaka, S.; Matsuda, H.; Wada, K. *Neuron* **2000**, *2*, 285-286
- ³⁰ Volgraf, M.; Gorostiza, P.; Numano, R.; Kramer, R. H.; Isacoff, E. Y.; Trauner, D. *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 47-52.
- ³¹ Gorostiza, P.; Isacoff, E. Y. *Physiology* **2008**, *23*, 238-247.
- ³² Gorostiza, P.; Volgraf, M.; Numano, R.; Szobota, S.; Trauner, D.; Isacoff, E.Y. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 10865-10870.
- ³³ Volgraf, M.; Gorostiza, P.; Szobota, S.; Helix, M. R.; Isacoff, E. Y.; Trauner, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 260-261.
- ³⁴ Numano, R.; Szobota, S.; Lau, A. Y.; Gorostiza, P.; Volgraf, M.; Roux, B.; Trauner, D.; Isacoff, E. Y. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 6814-6819.
- ³⁵ Zollinger, H. *Colour Chemistry. Synthesis, Properties, and Applications of Organic Dyes*; VCH, **1987**, Weinheim.

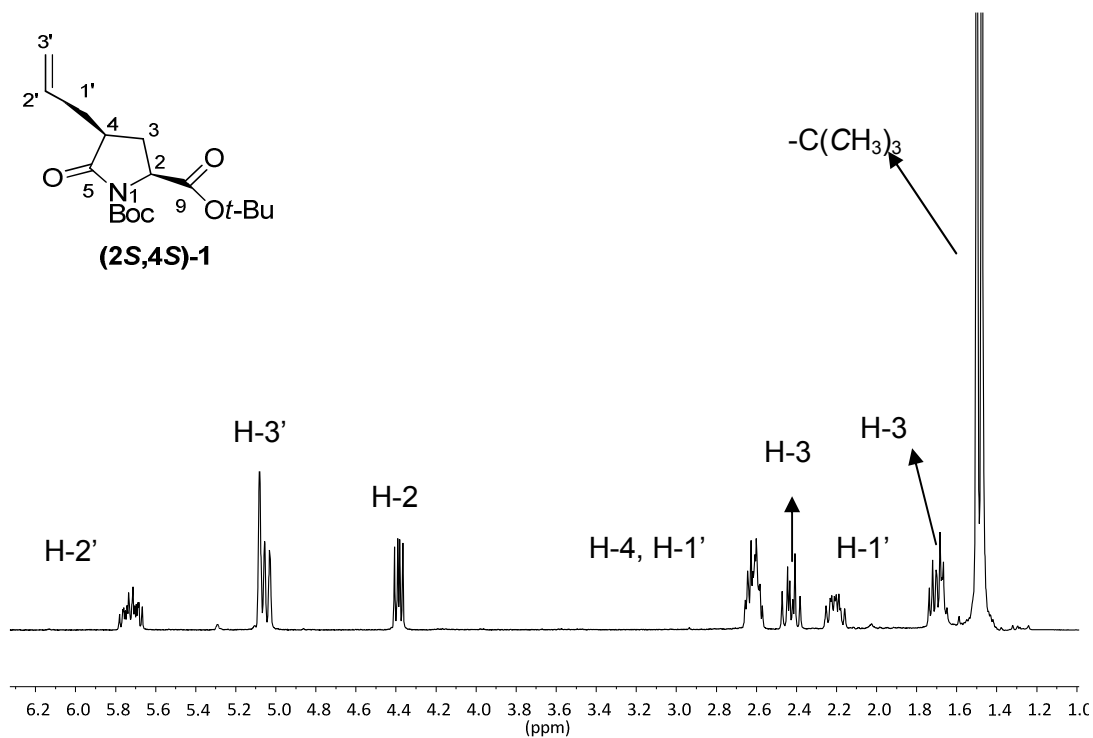
- ³⁶ Kwole, S.; Morgan, P.; Schaefgen, J. *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*; New York, **1989**.
- ³⁷ Gross, U.; Nieger, M.; Bräse, S. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4740-4742
- ³⁸ Pedregal, C.; Collado, I.; Escribano, A.; Ezquerro, J.; Domínguez, C.; Mateo, A.; Rubio, A.; Baker, S.R.; Goldsworthy, J.; Kamboj, R.K.; Ballyk, B.A.; Hoo, K.; Bleakman, D. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1958-1968.
- ³⁹ Ezquerro, J. ; Pedregal, C. ; Rubio, A. ; Yrretagoyena, B. ; Escribano, A.; Sanchez-Ferrando, F. *Tetrahedron* **1993**, *49*, 8665-8678
- ⁴⁰ Steger M.; Young, D.W.; *Tetrahedron* **1999**, *55*, 7935-7956
- ⁴¹ Charrier, J. D; Hadfield, D. S.; Hitchcock, P.B.; Young, D.W. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 474-482
- ⁴² Tarver, J.E.; Terranova, K.M.; Joullie, M.M. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 10277-10284
- ⁴³ Clark, J.H. *Chem. Rev.* **1980**, *80*, 429-452.
- ⁴⁵ Avent, A.G. ; Duggan, H.M.E. ; Young, D.W. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 2327-2332
- ⁴⁶ Ten Brink, H. T.; Rijkers, D. T. S.; Liskamp, R. M. J. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 1817-1824.
- ⁴⁷ Schrock, R. R.; Hoveyda, A. H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4592-4633.
- ⁴⁸ Chen, J.R.; Li, C.F.; An, X.L.; Zhang J.J.; Zhu, X.Y.; Xiao, W.J. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, 2489-2492.
- ⁴⁹ a) McKillop, A.; Kemp, D. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 3299-3306. b) Travis, B. R.; Sivakumar, M.; Hollist, G. O.; Borhan, B. *Org. Lett.*, **2003**, *5*, 1031-1034. c) Vora, H. U.; Rovis, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2860-2861.
- ⁵⁰ Bal, B. S.; Childers, W. E.; Pinnick, H. W. *Tetrahedron* **1981**, *37*, 2091-2096.
- ⁵¹ Lindgren, B.O.; Nilsson, T.; Husebye, S.; Mikalsen, Ø.d; Leander, K.; Swahn, C-G. *Acta Chem. Scand.* **1973**, *27*, 888-890.
- ⁵² Clayden, J. *Organic Chemistry*. Oxford University Press: Oxford. **2001**.

Índex d'espectres

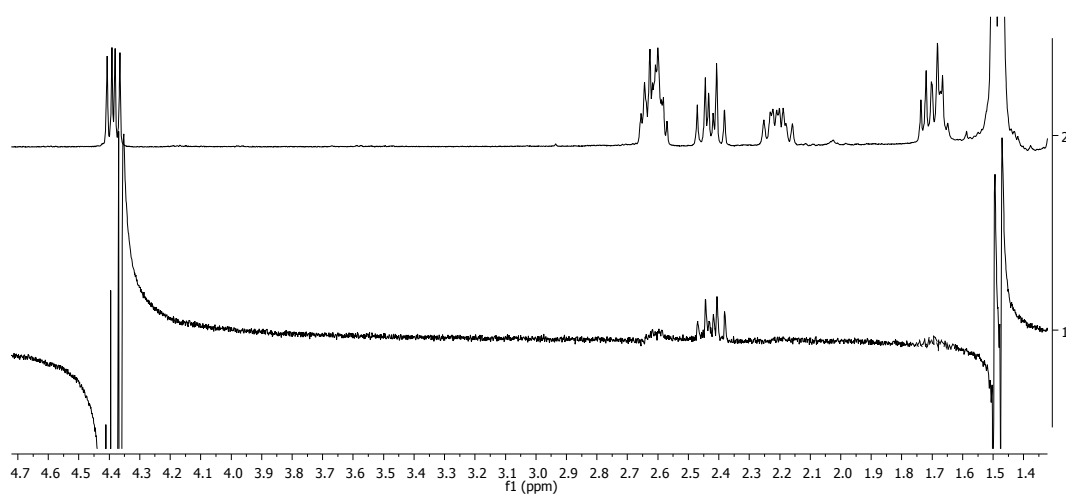
 ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3)NOE (360 MHz, CDCl_3) selectiu irradiant sobre el protó H-2



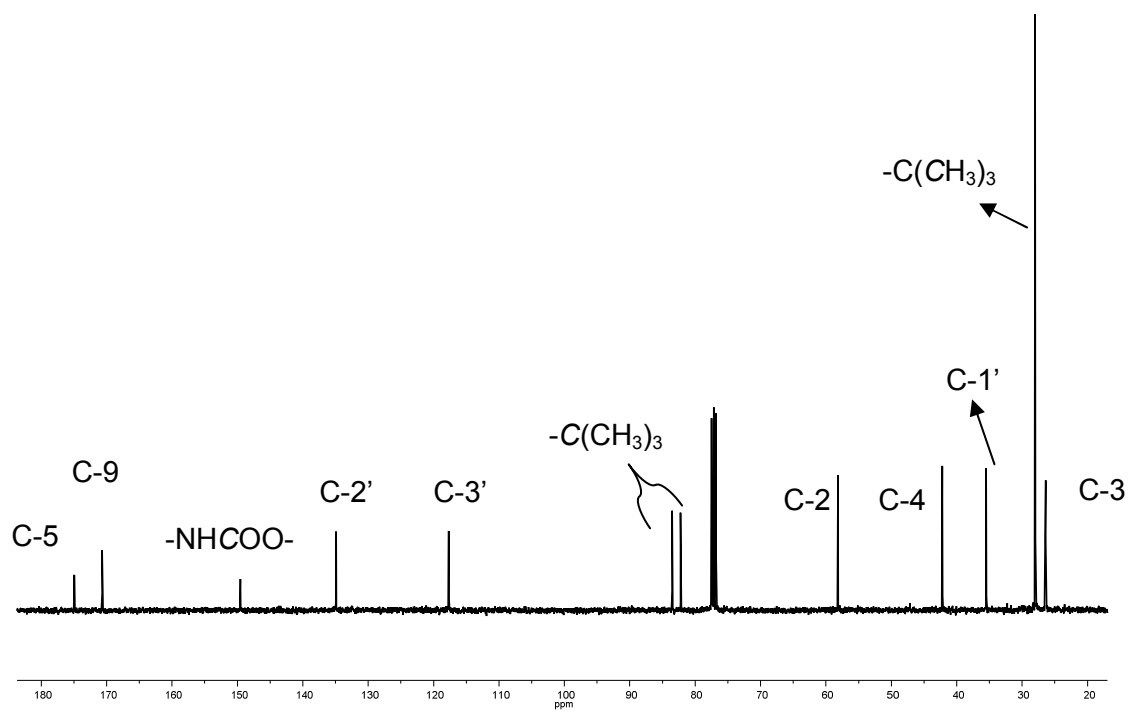
^{13}C NMR (91 MHz, CDCl_3)



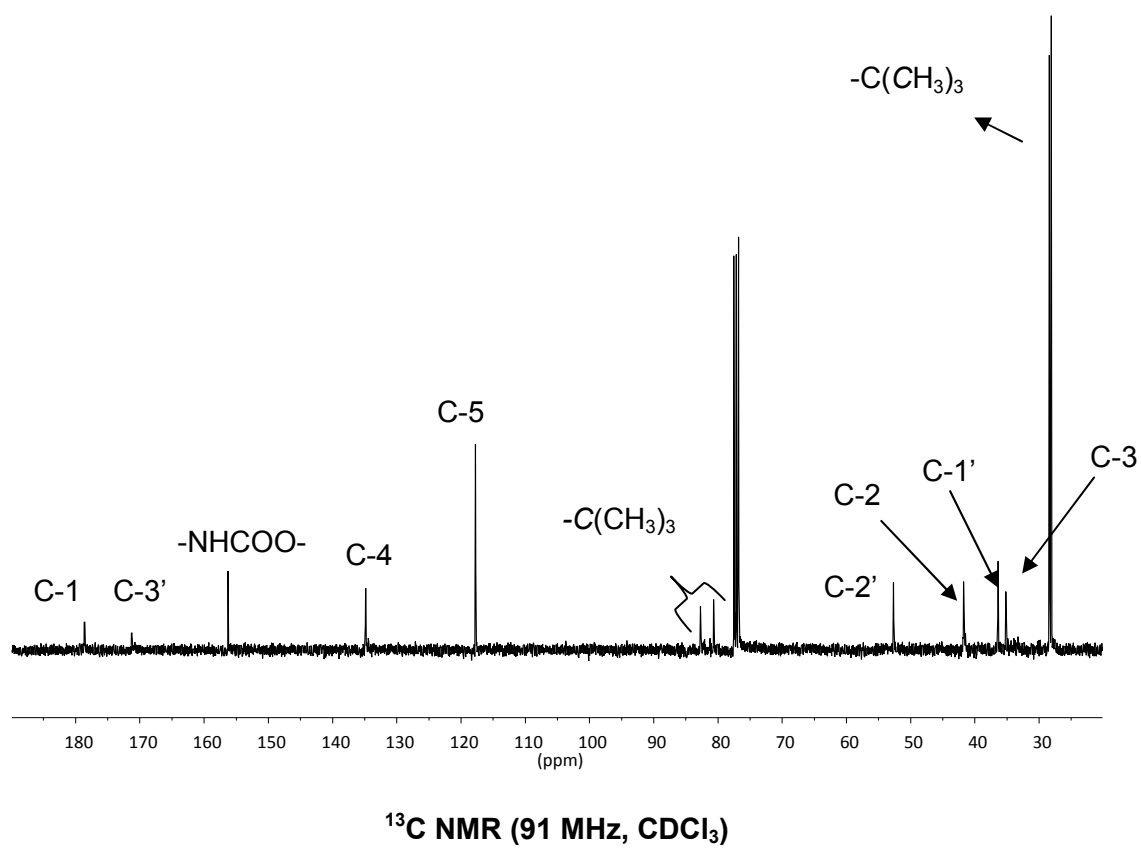
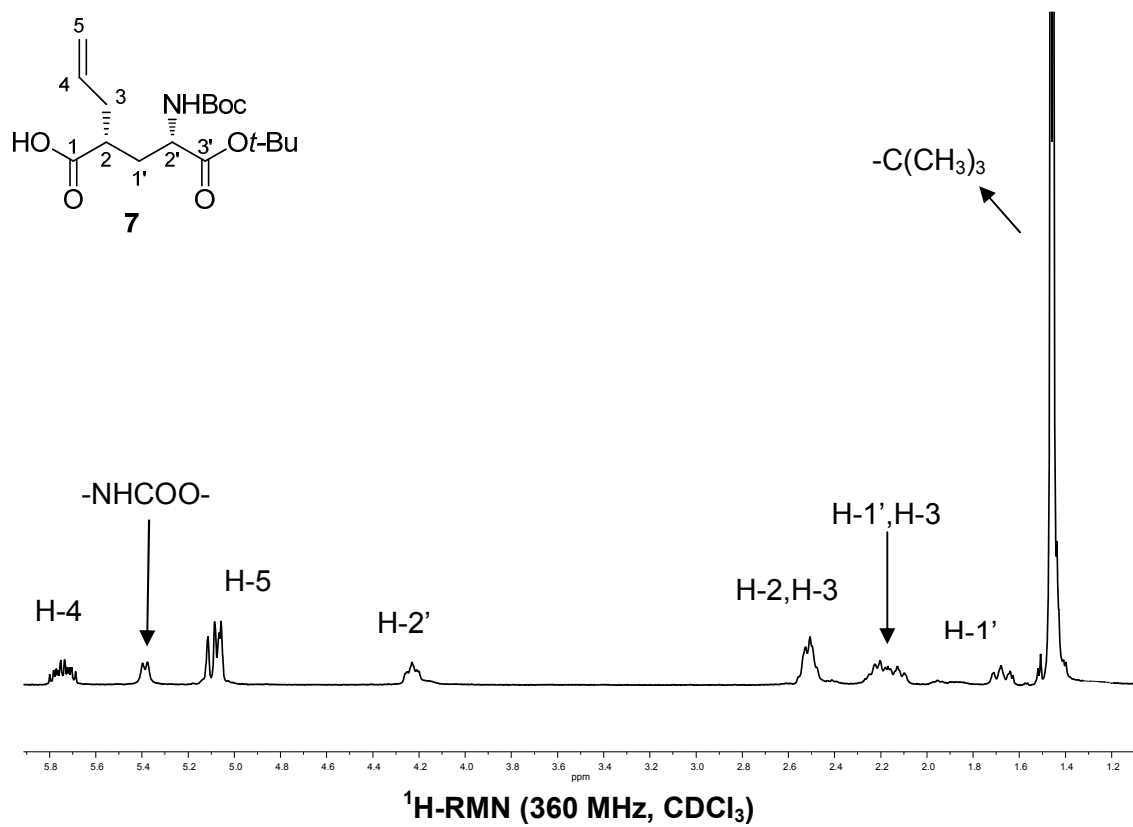
^1H NMR (360 MHz, CDCl_3)

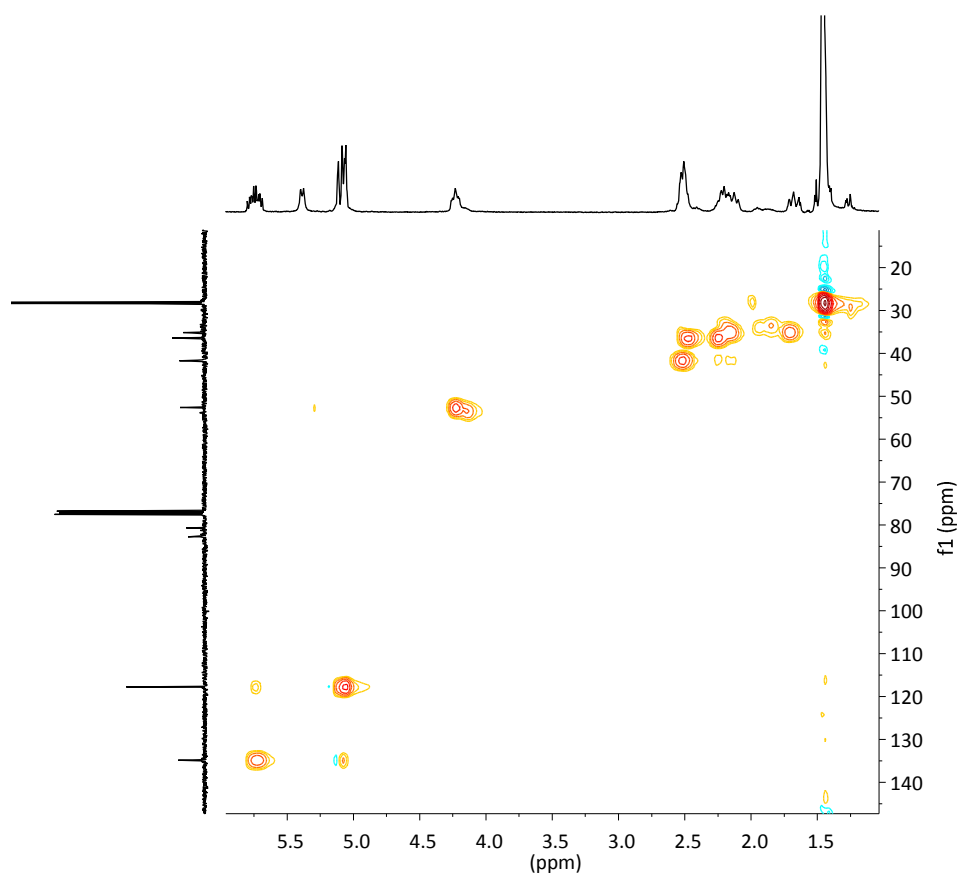


NOE (360 MHz, CDCl_3) selectiu irradiant sobre el protó H-5

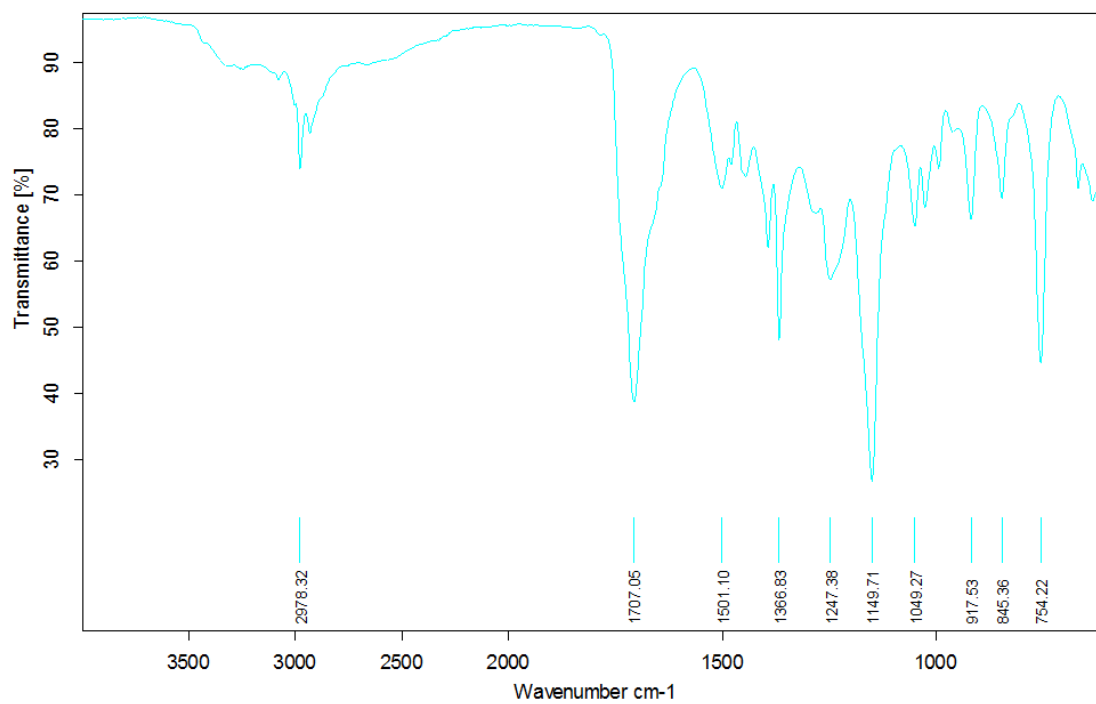


^{13}C NMR (91 MHz, CDCl_3)

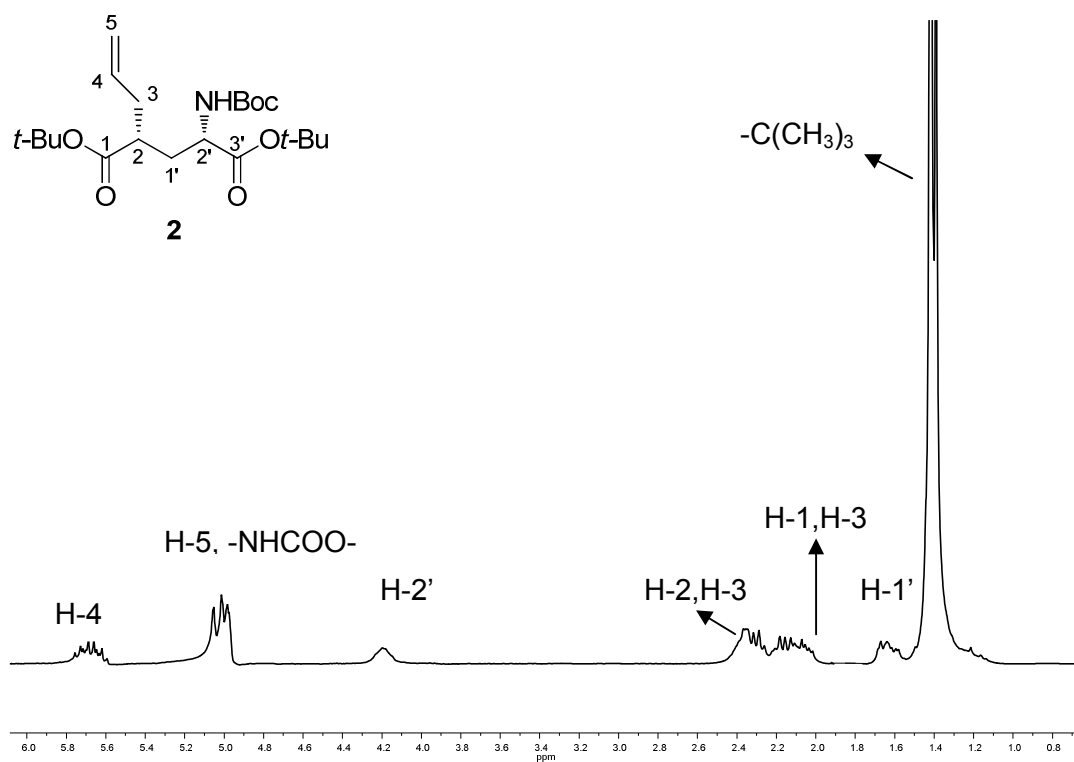
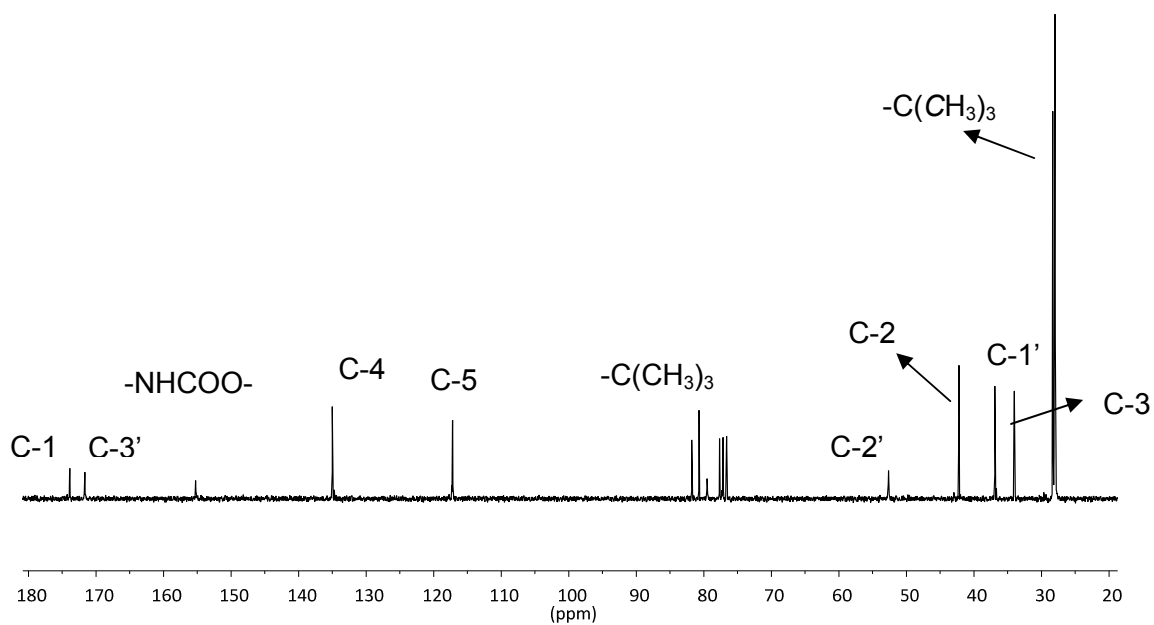


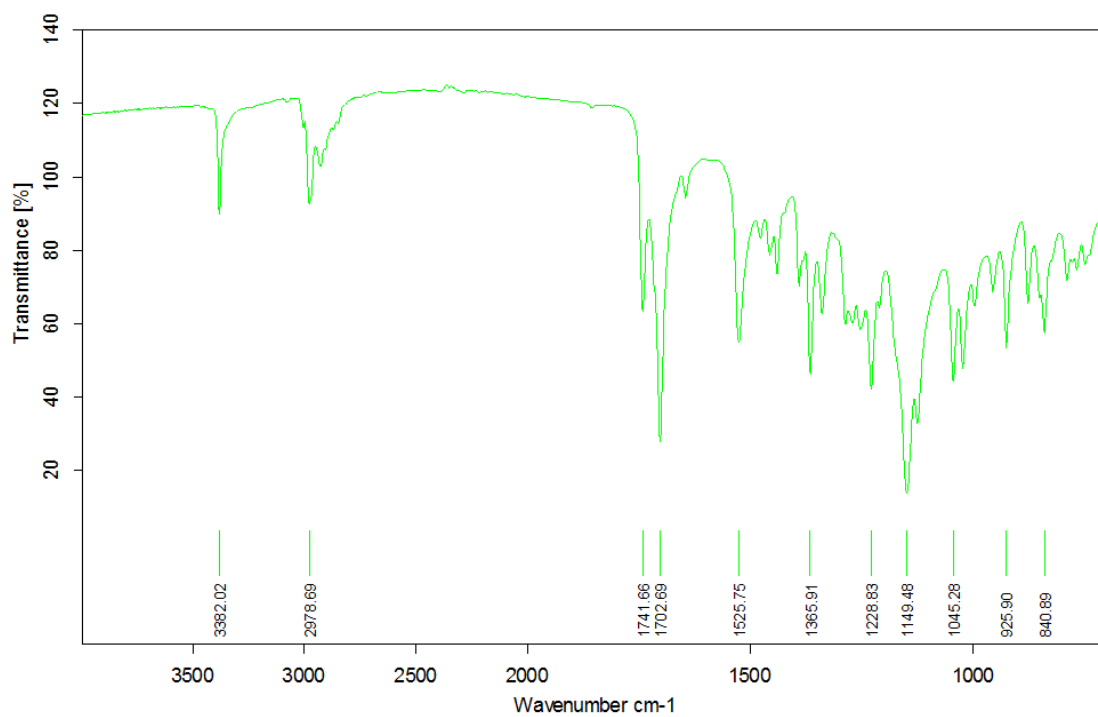
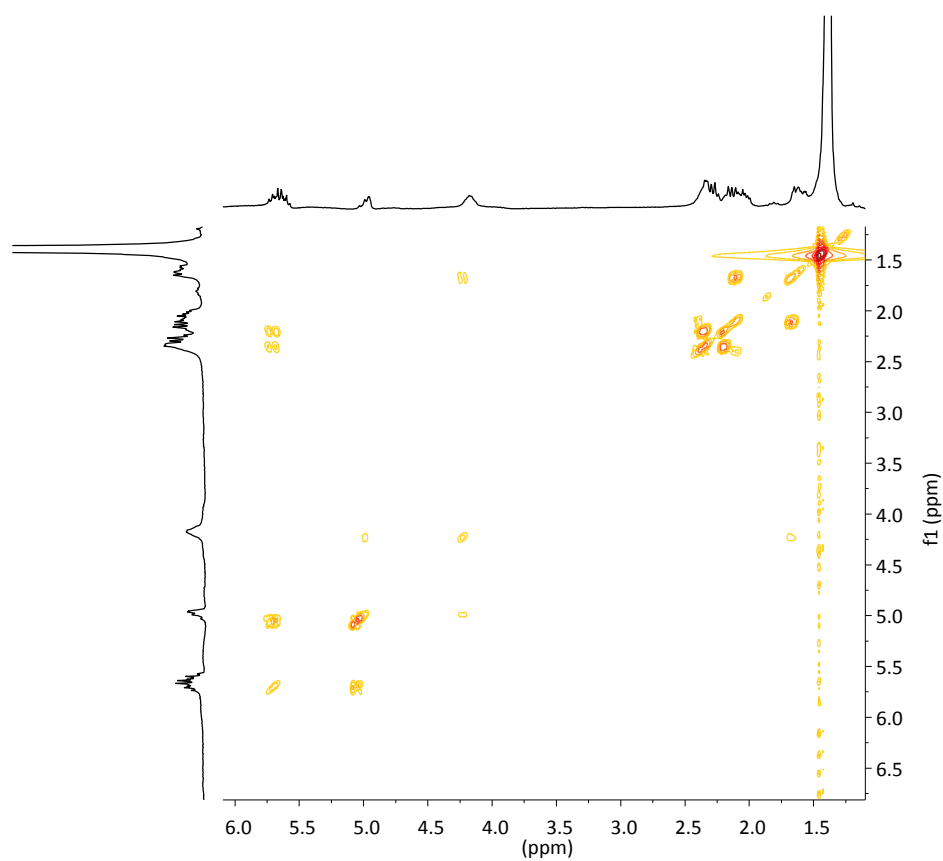


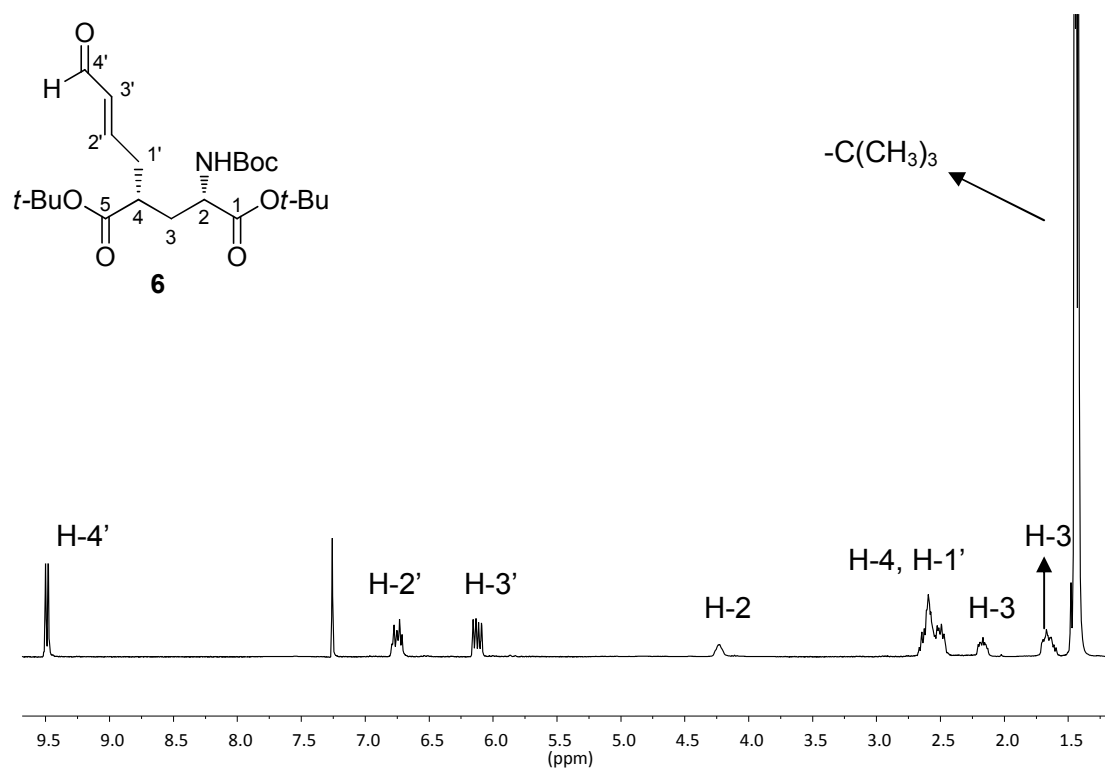
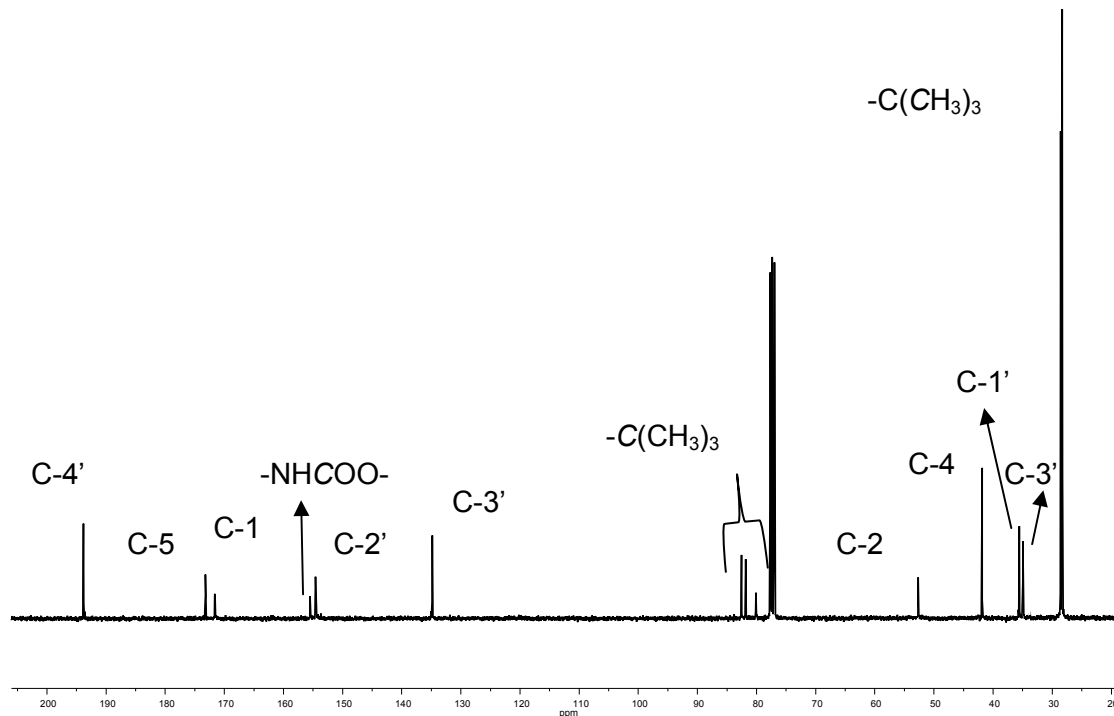
HSQC (360 MHz, CDCl_3)

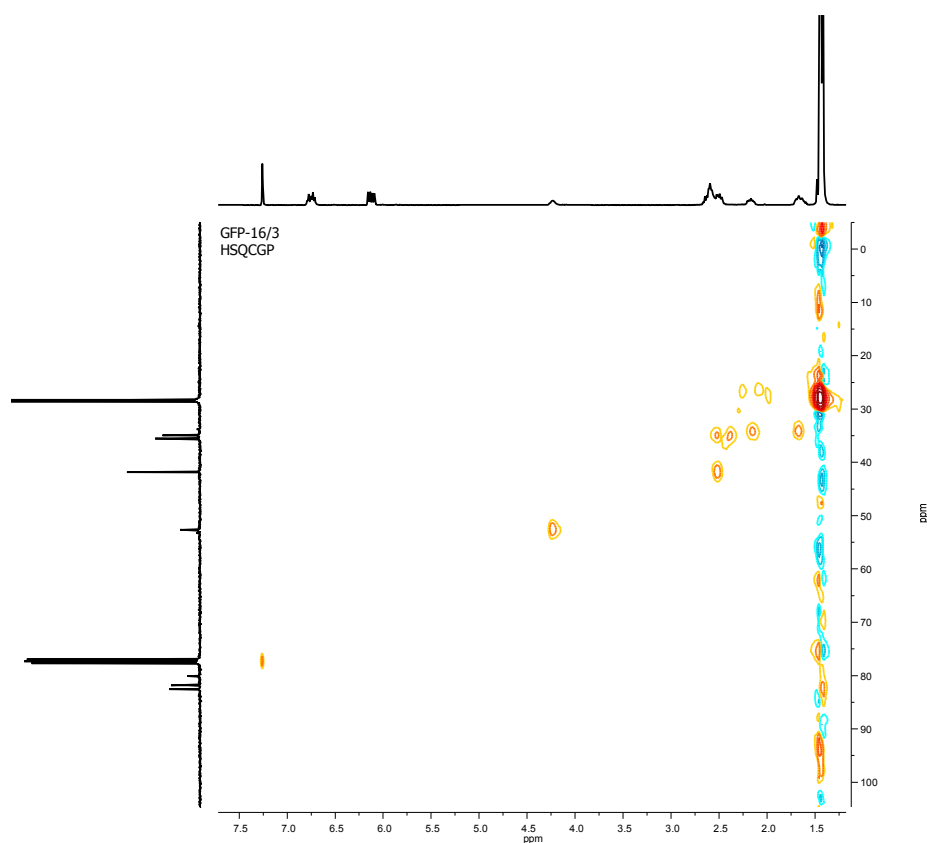


IR (ATR)

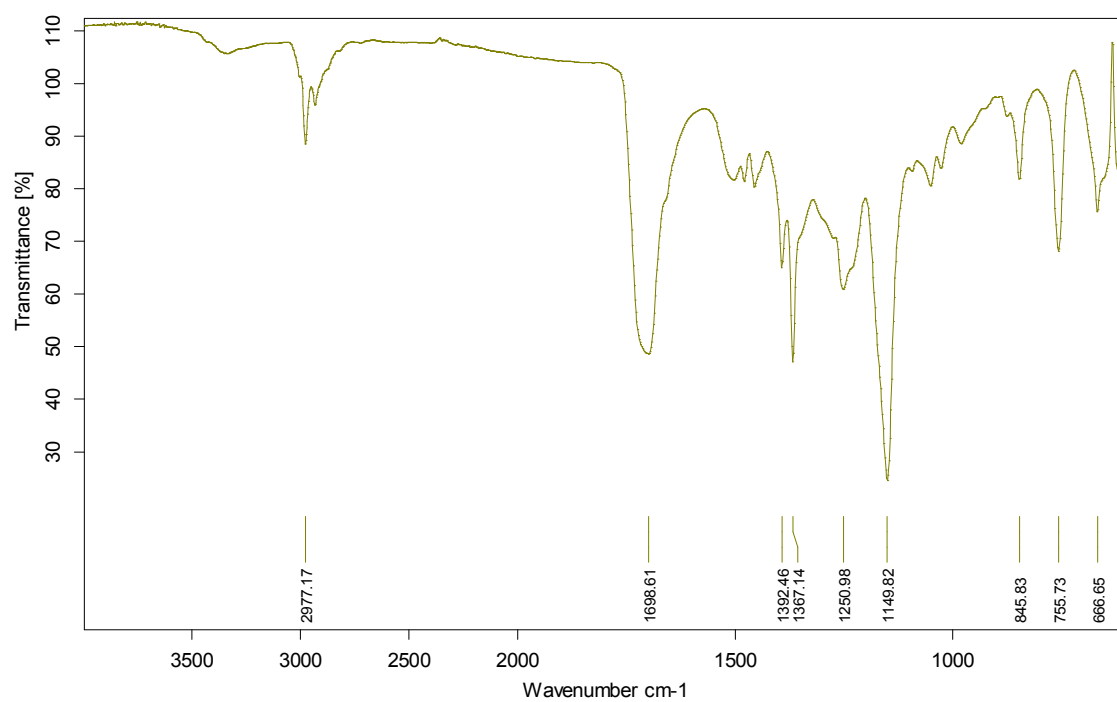
 ^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (63 MHz, CDCl_3)



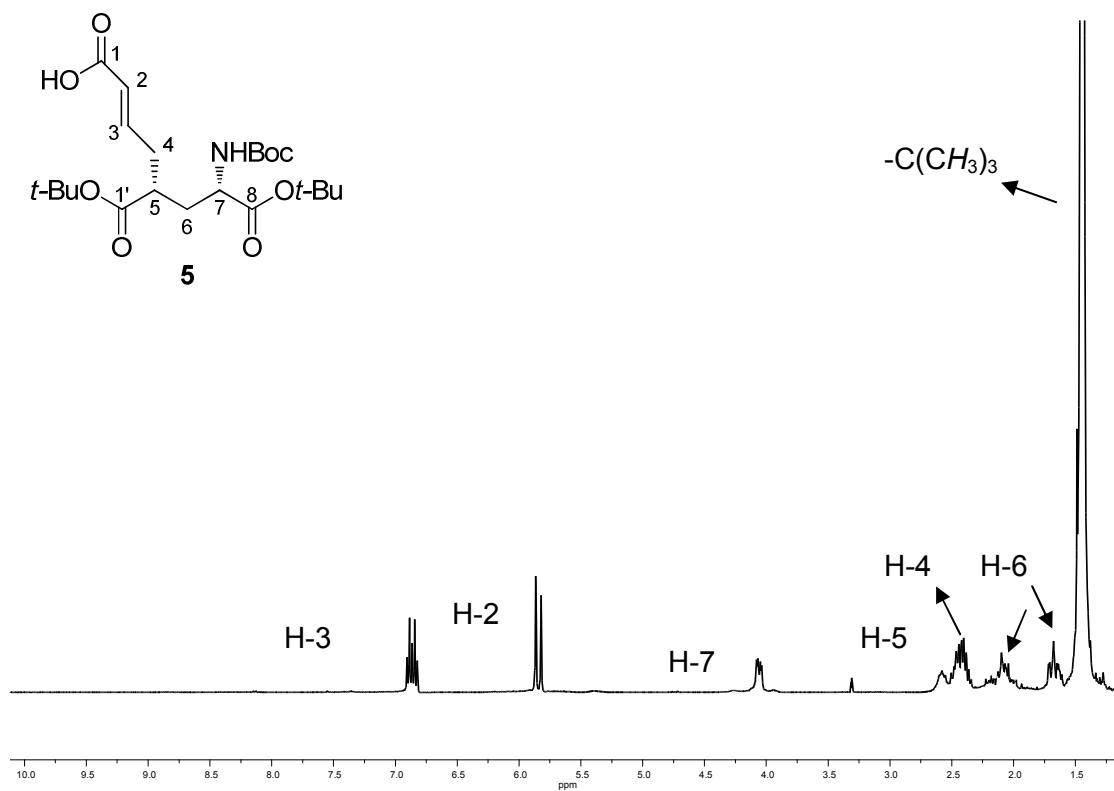
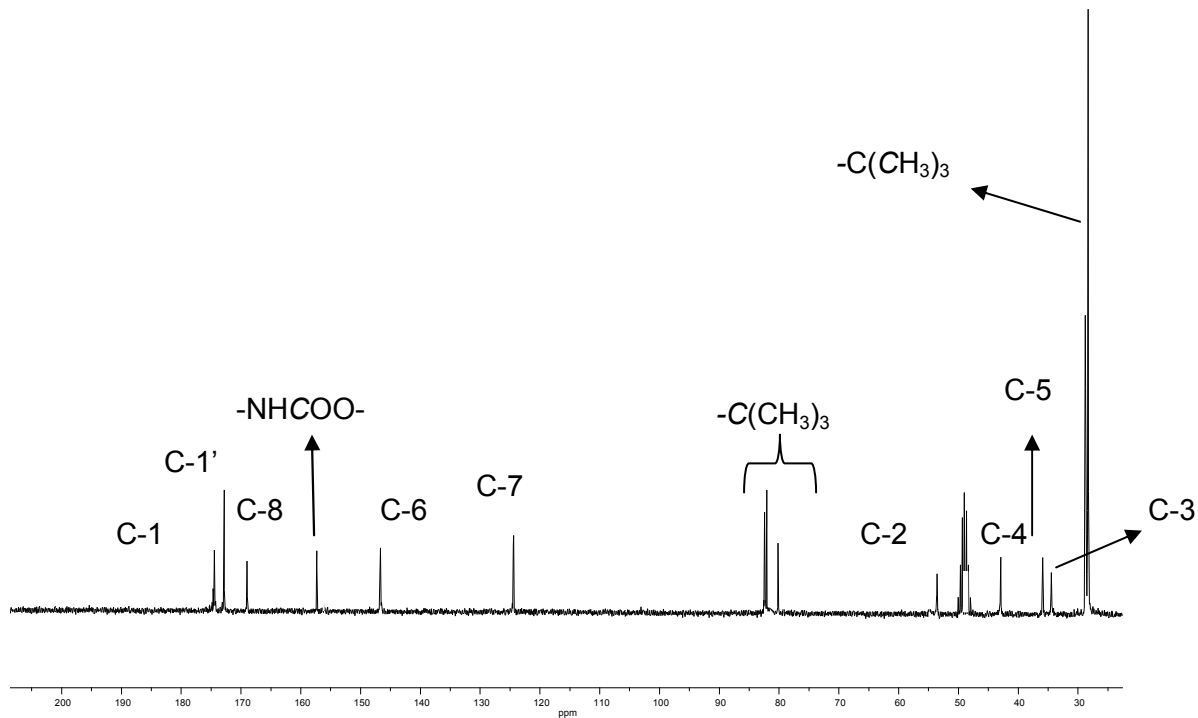
 ^1H NMR (360 MHz, CDCl_3) ^{13}C NMR (91 MHz, CDCl_3)

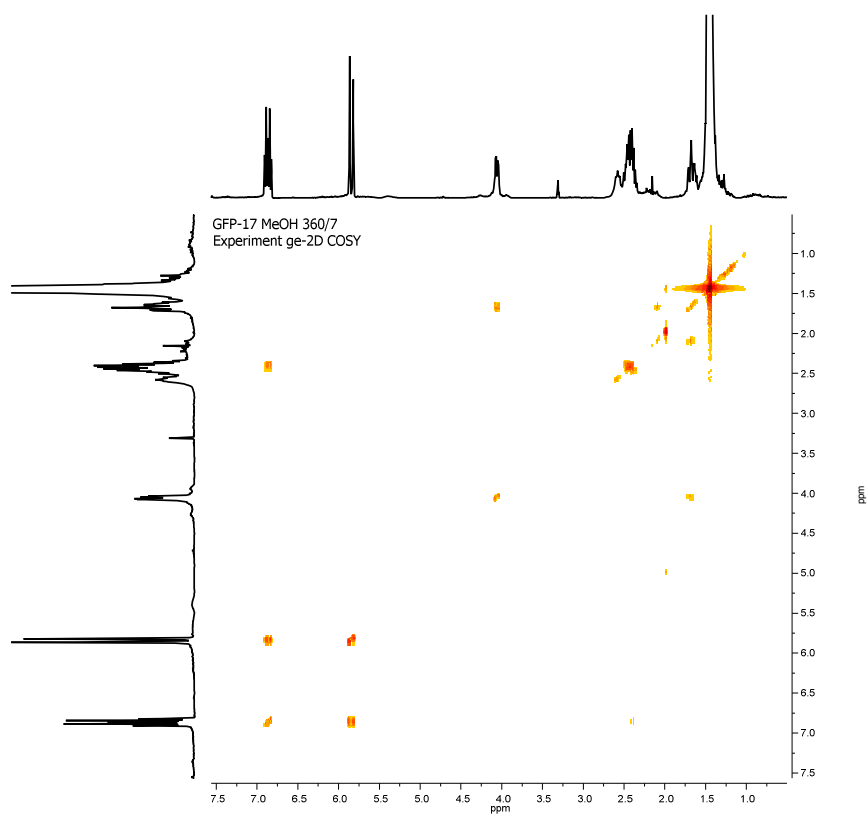


HSQC (360 MHz, CDCl₃)

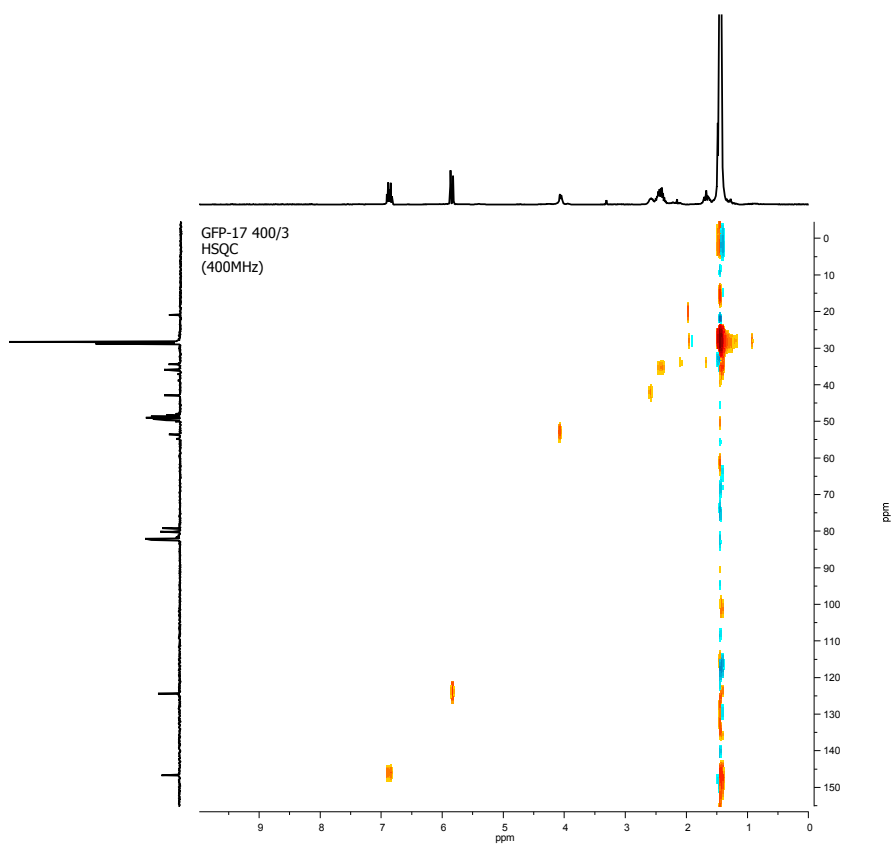


IR (ATR)

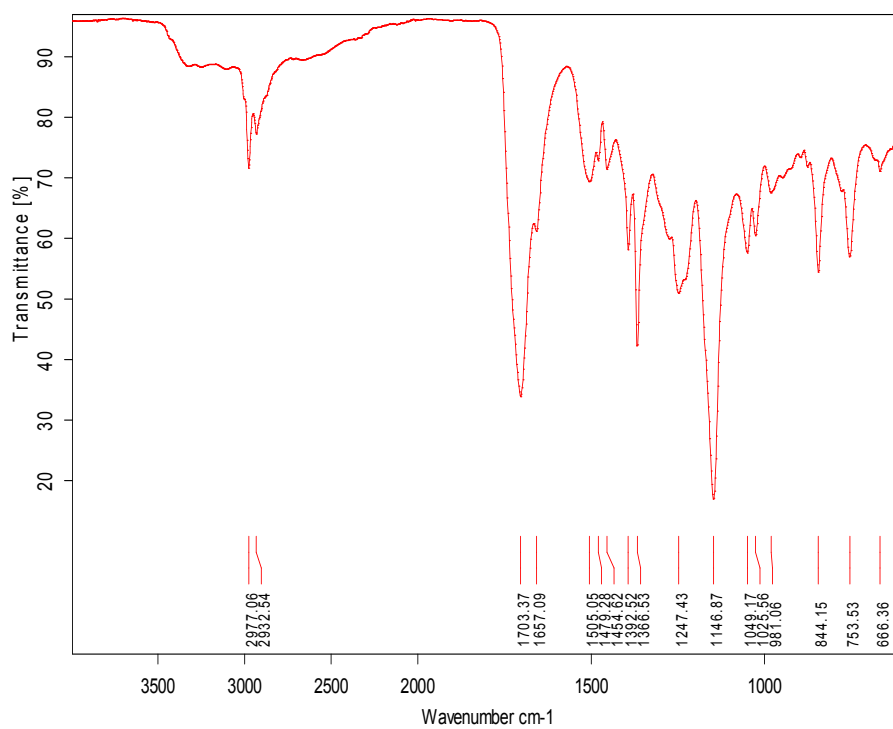
¹H NMR (360 MHz, CD₃OD)¹³C NMR (63 MHz, CD₃OD)



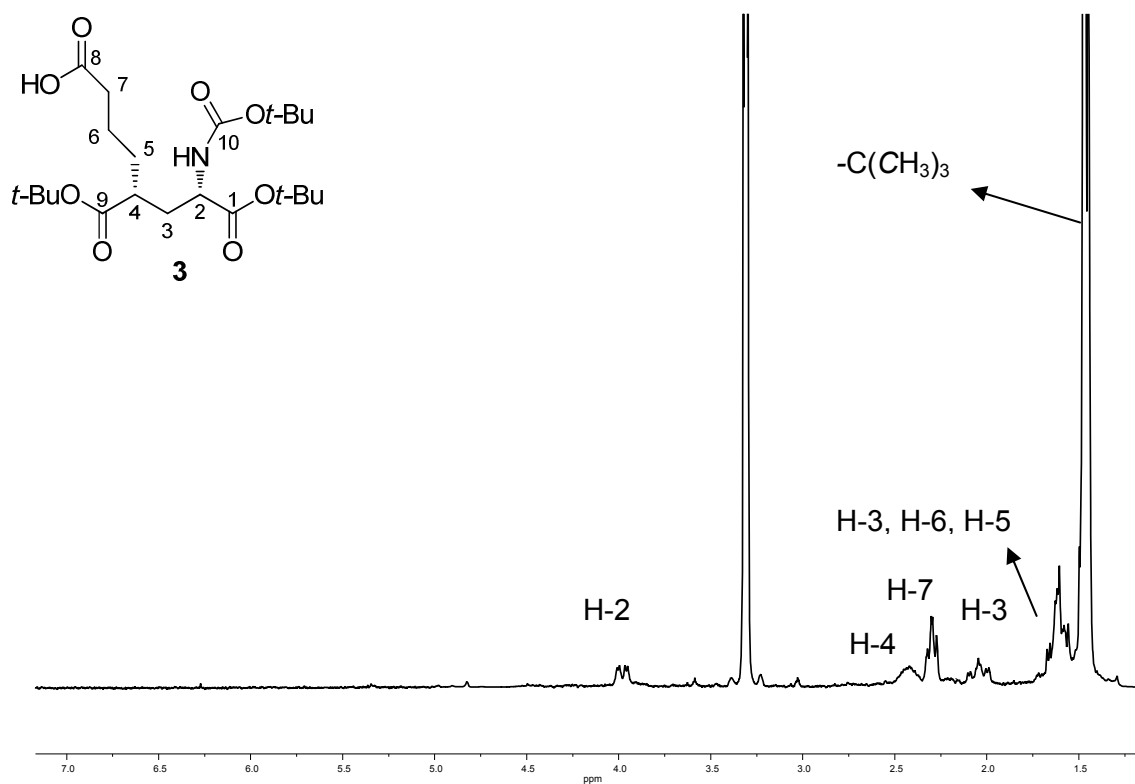
COSY (360 MHz, CD₃OD)

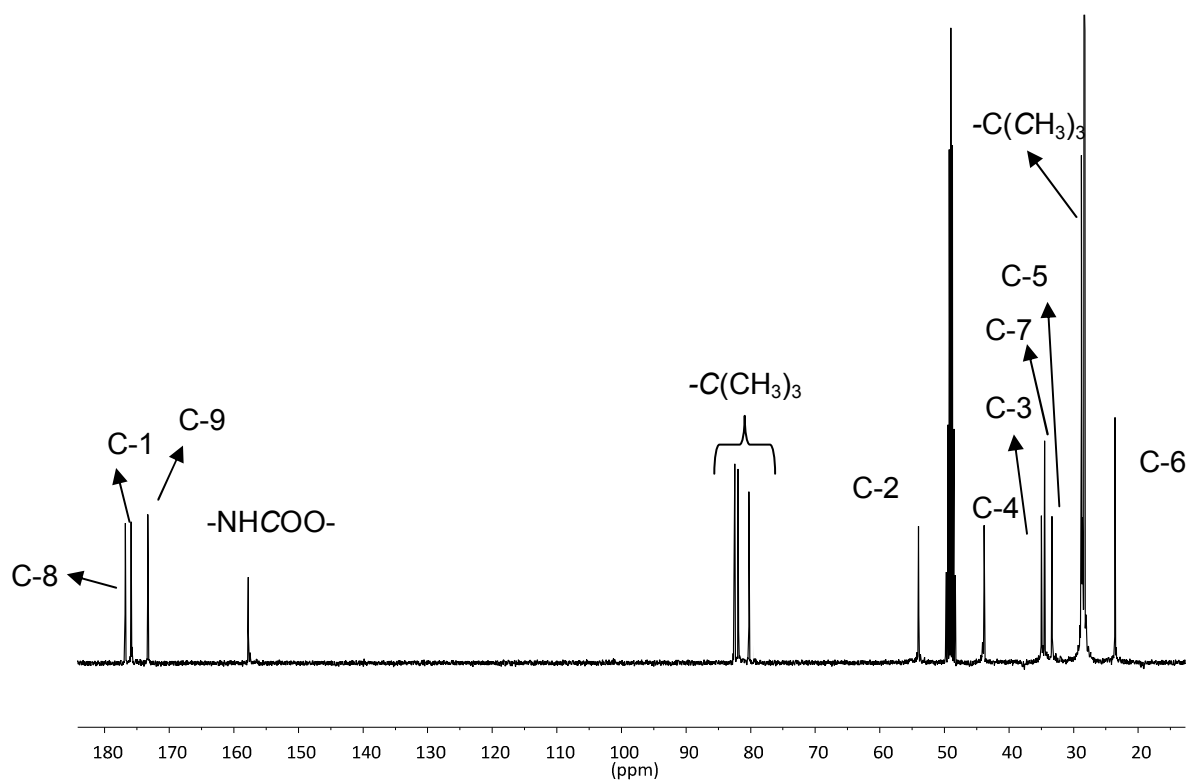


HSQC (400 MHz, CD₃OD)

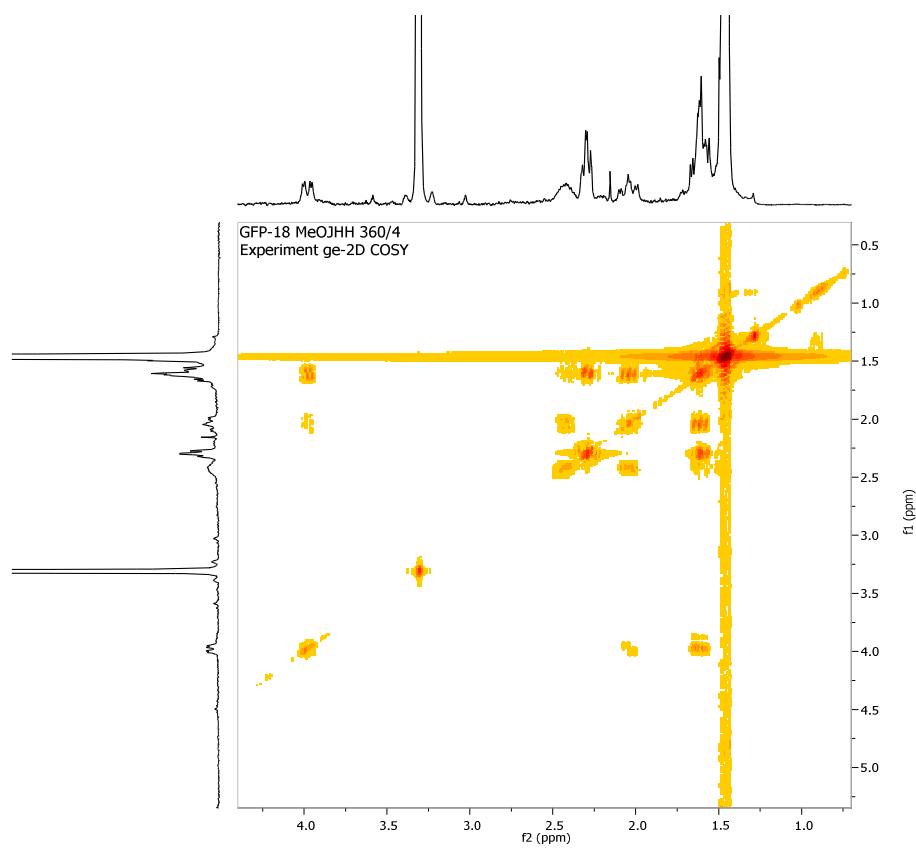


IR (ATR)

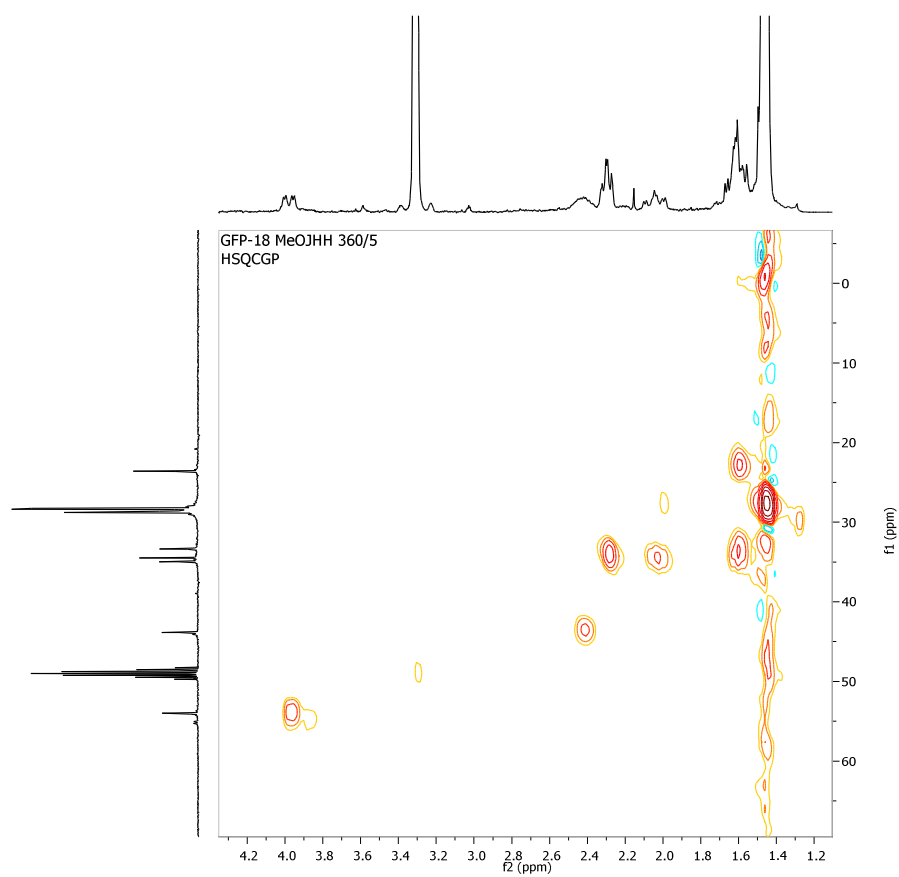
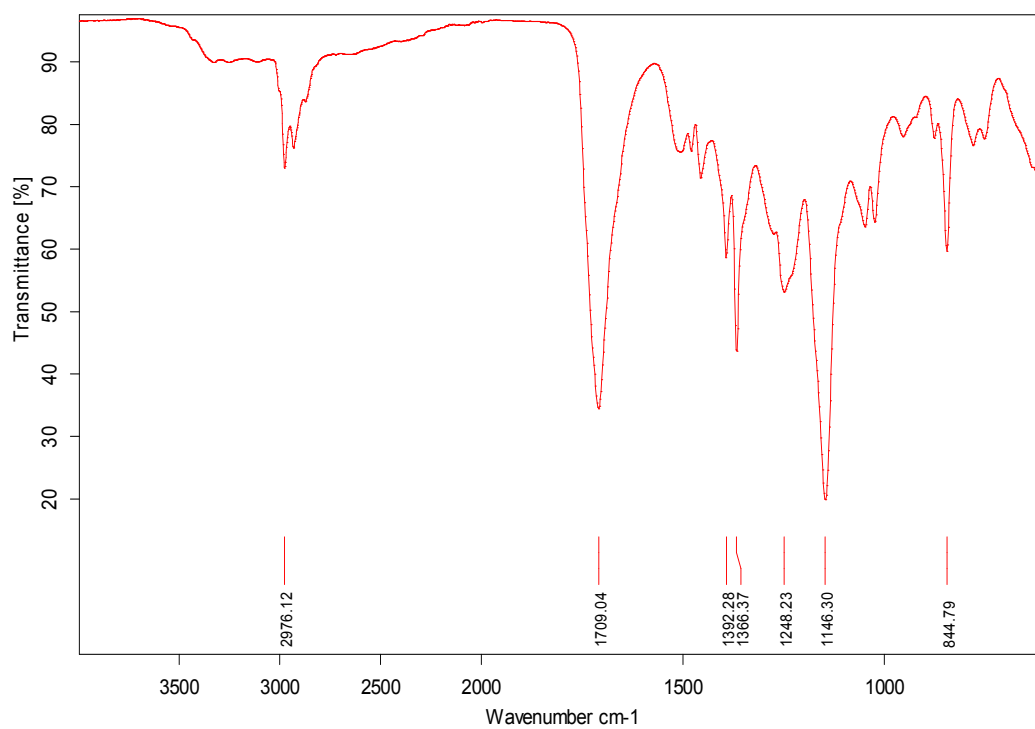
¹H NMR (250 MHz, CD₃OD)



^{13}C NMR (91 MHz, CD_3OD)



COSY (360 MHz, CD_3OD)

**HSQC (360 MHz, CD₃OD)****IR (ATR)**